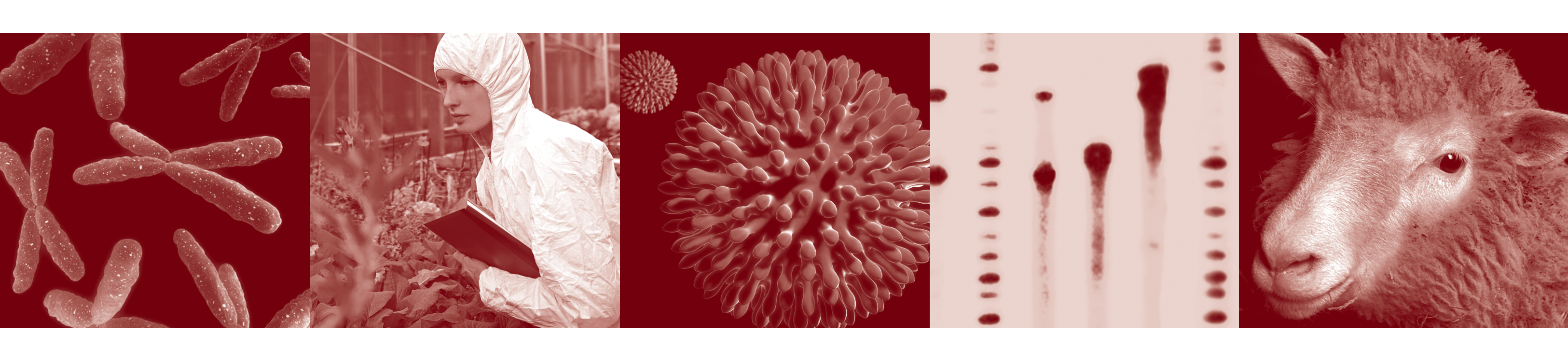


2ª edición
Introducción a la biotecnología
William J. Thieman
Michael A. Palladino
PEARSON

Introducción a la
Biotecnología

Introducción a la **Biotecnología**

Segunda Edición



William J. Thieman

Ventura College, Emeritus

Michael A. Palladino

Monmouth University

TRADUCCIÓN Y PRODUCCIÓN EDITORIAL

EDICIONES GRÁFICAS ARIAL, S.L.

REVISIÓN TÉCNICA

Alberto Muñoz Céspedes

Centro de Tecnología Biomédica. Universidad Politécnica de Madrid

Departamento de Biología Celular. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid

Addison Wesley
es un sello editorial de



Harlow, England • London • New York • Boston • San Francisco • Toronto
Sydney • Tokyo • Singapore • Hong Kong • Seoul • Taipei • New Delhi
Cape Town • Madrid • Mexico City • Amsterdam • Munich • Paris • Milan

INTRODUCCIÓN A LA BIOTECNOLOGÍA
William J. Thieman, Michael A. Palladino

PEARSON EDUCACIÓN, S.A. 2010
ISBN: 978-84-7829-117-5

Materia: 577 - Bioquímica. Biología molecular. Biofísica.

Formato: 215 x 270 mm   Páginas: 406

Ribera del Loira, 28
28042 Madrid (España)

ISBN: 978-84-7829-117-5

Depósito Legal:

Equipo editorial:
Editor: Miguel Martín-Romo
Técnico Editorial: Esther Martín
Equipo de producción:
Director: José A. Clares
Técnico: Isabel Muñoz
Diseño de cubierta: Equipo de diseño de Pearson Educación, S. A.
Traducción y composición: Ediciones Gráficas Arial, S.L.
Impreso por:

IMPRESO EN ESPAÑA - PRINTED IN SPAIN
Este libro ha sido impreso con papel y tintas ecológicos

A mi esposa, el amor de mi vida,
y a los cientos de licenciados en biotecnología
que trabajan en las empresas de biotecnología
y aman cada minuto de su trabajo.

W. J. T.

A María y Angelo, mis padres,
que me dieron todo el cariño y el apoyo
que una familia puede dar.

M. A. P.

Sobre los autores



El Dr. Hill Thieman en el laboratorio.



El Dr. Palladino en el laboratorio
con estudiantes de pregrado de biología.

William J. Thieman enseñó biología durante 35 años en la Universidad de Ventura y biotecnología durante 11 años antes de retirarse de la enseñanza a tiempo completo en el año 2005. Continúa impartiendo la asignatura de biotecnología a tiempo parcial en la Universidad de Ventura. Obtuvo su licenciatura en biología en la Universidad del Estado de California, en Northridge, en 1966 y su máster en Zoología en 1969 en UCLA. En 1993, comenzó un programa de capacitación como biotecnólogo en la Universidad de Ventura, donde ha estado impartiendo clases desde el año 1970. En 1995, añadió prácticas de laboratorio al curso y lo articuló como un programa profesional aprobado por el Estado.

El profesor Thieman ha impartido diversos cursos de pregrado incluyendo biología general, humana y biología del cáncer. En 1996 recibió el Premio de Enseñanza Extraordinaria de la Asociación Nacional de Profesores de Biología y el Premio al Éxito Estudiantil de la Comunidad de Universidades de California en 1997 y 2000. La Asociación para el Desarrollo Económico otorgó al programa de formación en biotecnología a la Universidad de Ventura su Premio al Programa de Desarrollo Económico por su trabajo con empresas locales de biotecnología. Su éxito en la consecución de subvenciones para apoyar el programa fue reconocido en la Conferencia del Centro Nacional para el Desarrollo de los Recursos en 2007.

Michael A. Palladino es Decano de la Facultad de Ciencias, Tecnología e Ingeniería, y Profesor Asociado de Biología en la Universidad de Monmouth, en el oeste de Long Branch, Nueva Jersey. Obtuvo la licenciatura de Biología en la Universidad del estado de Trenton (ahora conocido como la Universidad de Nueva Jersey) en 1987, y su doctorado en Anatomía y Biología Celular en la Universidad de Virginia en 1994. Desde 1994 a 1999 fue miembro facultativo de la Universidad de Brookdale, en Lincroft, Nueva Jersey. Se unió a la facultad de Monmouth en 1999.

El Dr. Palladino ha impartido una amplia gama de cursos de pregrado. Ha recibido varios premios por su investigación y enseñanza, incluyendo el Premio de Distinción al Maestro de la Universidad de Monmouth, el Premio de Cuidados Cardiacos de la Asociación de Investigación Biomédica de Nueva Jersey, el Premio a Nuevos Investigadores de la Sociedad Americana de Andrología, y el Premio Extraordinario al Profesional de la Universidad de Brookdale. En Monmouth, tiene un activo laboratorio donde los estudiantes universitarios participan en la investigación en biología celular y molecular de los órganos reproductores masculinos. Es fundador y director del Consorcio de Educadores de Biotecnología de Nueva Jersey, una asociación a nivel estatal para profesores de biotecnología.

El Dr. Palladino es autor de *Comprensión del Proyecto Genoma Humano*, el primer volumen de los *Temas Especiales de Benjamin Cummings en las Series de Biología* para la que también trabaja como editor. El Dr. Palladino se unió recientemente al equipo de redacción de W. S. Klug, M. R. Cummings, y C. A. Spencer sobre *Conceptos de Genética* y *Fundamentos de Genética*, ambos publicados por Benjamin Cummings.

Prefacio

Es difícil imaginar un momento más emocionante para estudiar biotecnología. Los avances se producen a una velocidad vertiginosa, y la biotecnología ha tenido un gran impacto en muchos aspectos de nuestra vida cotidiana. *Introducción a la Biotecnología* es el primer libro de texto de biotecnología escrito específicamente para estudiantes de pregrado de diversos orígenes. Apropiado para estudiantes, tanto de dos como de cuatro años de formación profesional y de escuelas técnicas, *Introducción a la Biotecnología* proporciona a los estudiantes las herramientas para el conocimiento práctico de la industria biotecnológica, ya que abarca el análisis equilibrado de los factores moleculares de la biología, detalles sobre las técnicas y las aplicaciones contemporáneas, la integración de las cuestiones éticas, y la orientación profesional.

Introducción a la Biotecnología fue diseñado con varios objetivos principales, y tiene por finalidad ofrecer:

- Una redacción atractiva y fácil de entender, que es apropiada para una audiencia diversa de estudiantes con diferentes niveles de conocimiento científico.
- Ayudar a los educadores a explicar las principales áreas de la biotecnología y ayudar a los estudiantes a aprender los conceptos científicos fundamentales sin abrumarles ni dar un excesivo detalle.
- Una visión histórica de las aplicaciones, destacando al mismo tiempo las áreas modernas, de vanguardia y emergentes de la biotecnología.
- Analizar en profundidad cómo las aplicaciones de la biotecnología pueden convertirse en herramientas para resolver importantes problemas científicos y sociales en beneficio de la humanidad y el medio ambiente.
- Inspirar a los estudiantes para que reflexionen sobre las múltiples cuestiones éticas relacionadas con la biotecnología.

Introducción a la Biotecnología se ocupa de una amplia gama de temas como la biología molecular, la bioinformática, la genómica y la proteómica. Nos hemos esforzado por estudiar de forma equilibrada la biología molecular básica con la práctica y las aplicaciones actuales de la biotecnología para proporcionar a los estudiantes las herramientas y conocimientos para comprender este campo.

En nuestro esfuerzo por presentar a los estudiantes las técnicas y aplicaciones más punteras de la biotecnología, hemos dedicado capítulos específicos para tales áreas emergentes, como la biotecnología agrícola (Capítulo 6), la biotecnología forense (Capítulo 8), la biorremediación (Capítulo 9) y la biotecnología acuática (Capítulo 10). En el Capítulo 12 se discuten muchas regulaciones y cuestiones que afectan a la industria de la biotecnología. Además de las cuestiones éticas incluidas en cada capítulo, como los recuadros *Tú decides*, un capítulo independiente (Capítulo 13) está dedicado a la ética y la biotecnología.

Características

Introducción a la Biotecnología está específicamente concebido para proporcionar varios elementos clave que ayudarán a los estudiantes en su aprendizaje de la biotecnología y en su preparación para una carrera biotecnológica.

Objetivos de aprendizaje

Cada capítulo comienza con una breve lista de objetivos de aprendizaje que presentan los conceptos clave que los estudiantes deben entender después de estudiar cada capítulo.

Abundantes ilustraciones

Alrededor de 200 figuras y fotografías apoyan el contenido del capítulo. Ilustraciones, diagramas, tablas y listas, presentan paso por paso algunas explicaciones que ayudan visualmente a los estudiantes a comprender mejor y analizar las técnicas de laboratorio y los complejos procesos más importantes en biotecnología.



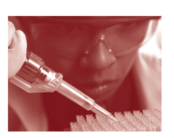
Perfil profesional

Un cuadro especial al final de cada capítulo introduce a los estudiantes a distintos puestos de trabajo y perspectivas profesionales en la industria biotecnológica y proporciona información detallada sobre las funciones de los trabajos, los salarios y sobre la preparación necesaria para desempeñar los puestos de trabajo. Actualmente, los expertos que trabajan en la industria biotecnológica han contribuido informando en muchos de estos cuadros de **Perfil profesional**. Animamos a los estudiantes a que consulten estos perfiles si están interesados en saber más sobre las carreras biotecnológicas.



Tú decides

Desde alimentos modificados genéticamente hasta investigación sobre células madre, hay un número infinito de temas en biotecnología que suscitan profundas cuestiones y dilemas éticos, jurídicos y sociales. Los recuadros de **Tú decides** estimulan la discusión en cada capítulo presentando a los estudiantes información relacionada con las implicaciones éticas y sociales de la biotecnología, que es seguida de una serie de preguntas. El objetivo de estos recuadros es ayudarles a abordar cuestiones éticas y formular sus propias decisiones con conocimiento.



Herramientas del comercio

La biotecnología se basa en la aplicación de diversas técnicas o herramientas de laboratorio en biología molecular, bioquímica, bioinformática, genética, matemáticas, ingeniería, ciencias de la computación, química y otras disciplinas. Los recuadros de **Herramientas del comercio** presentan en cada capítulo técnicas y tecnologías modernas relacionadas con el contenido de cada capítulo para ayudar a los estudiantes a aprender más acerca de las técnicas y métodos de laboratorio esenciales en biotecnología.



Recuadros de preguntas y respuestas (P & R)

Los recuadros **P & R** de cada capítulo presentan a los estudiantes preguntas que podrían surgirles a medida que leen el libro. Las respuestas proporcionan información sobre los antecedentes del tema que se trata y enriquecen el aprendizaje del alumno.

Preguntas y actividades

Las preguntas se incluyen en la conclusión de cada capítulo para reforzar la comprensión de los conceptos por el estudiante. Las actividades incluyen con frecuencia tareas que piden a los estudiantes explorar un tema de vanguardia. Las respuestas a estas preguntas se ofrecen en el Apéndice 1 al final del texto.

Bibliografía y lecturas complementarias

Se facilita una breve lista de bibliografía al final de cada capítulo como punto de partida para que los estudiantes aprendan más sobre un tema de biotecnología en particular. Hemos elegido cuidadosamente los artículos que puedan ayudar y motivar a los estudiantes a aprender más sobre un tema. Normalmente, estas referencias incluyen trabajos de investigación de referencia, artículos de revisión y artículos de la literatura científica general.

Mantenerse al día: Enlaces Web

Debido a que la biotecnología es una disciplina que cambia rápidamente, es casi imposible mantener actualizado un libro de texto sobre los nuevos y emocionantes descubrimientos. Para ayudar a los estudiantes a acceder a la información más actual, el alumno puede consultar un nutrido complemento de enlaces web de alta calidad de algunos de los mejores sitios de biotecnología y disciplinas afines en la web que acompaña a este texto, www.pearsonhighered.com/biotechnology. Debido a que los enlaces web pueden cambiar con frecuencia, hemos intentado seleccionar los sitios que están más consolidados. Te agradeceríamos que nos informaras cuando encuentres cambios de direcciones para que podamos actualizarlas.

Glosario

Como cualquier otra disciplina técnica, la biotecnología tiene un léxico de términos y definiciones que se utilizan habitualmente en las discusiones, conceptos y aplicaciones. Los términos más importantes se muestran en **negrita** a lo largo de todo el libro y se definen cuando aparecen en el texto. Las definiciones de estos términos clave se incluyen en un glosario al final del libro.

Nuevas características de la segunda edición

La segunda edición de *Introducción a la Biotecnología* incluye nuevos recursos de guía y atractivas características:

- Incremento del número de preguntas y actividades al final de los capítulos, incluyendo más ejercicios basados en Internet.
- Un banco de test computarizado con preguntas tipo test para cada capítulo, los archivos electrónicos de todas las imágenes del libro de texto; y diapositivas esquemáticas en PowerPoint, convenientemente localizadas en el Centro de Recursos para el Educador, www.pearsonhighered.com/ educador.
- Se han añadido nuevas entradas a Tú decides para estimular el interés de los estudiantes en temas de biotecnología controvertidos.

Además, cada capítulo ha sido revisado a fondo y actualizado para ofrecer a los estudiantes una información actualizada en áreas emergentes de la biotecnología. De especial interés son los siguientes cambios:

- **Capítulo 1: El siglo de la biotecnología y su capital humano** incluye una nueva sección sobre el «negocio de la biotecnología», que describe la organización y la estructura de una empresa de biotecnología, las mejores compañías de biotecnología y farmacéuticas, y datos actualizados sobre la industria mundial de la biotecnología.
- **Capítulo 2: Introducción a los genes y genomas** ofrece nuevos contenidos sobre factores de transcripción.
- **Capítulo 3: Tecnología del DNA recombinante y genómica** incluye nuevas secciones sobre el RNA de interferencia (RNAi), la genómica y la bioinformática, actualizando el contenido sobre el Proyecto del Genoma Humano, nuevos contenidos sobre genómica comparativa, genómica de la Edad de Piedra, y la revolución «ómica», y nuevos contenidos sobre los altos rendimientos de la automatización informática de la secuenciación de DNA y la PCR en tiempo real.
- **Capítulo 4: Las proteínas como productos** ofrece nueva información sobre la espectrometría de masas como método de elección para la secuenciación e identificación de proteínas, y los estudios de *microarrays* de proteínas.
- **Capítulo 5: Biotecnología microbiana** incluye nueva información sobre los posibles agentes biológicos patógenos para ataques con armas biológicas en fuentes de alimentos, el uso de *microarrays* de genes para la detección de respuestas del huésped a los agentes patógenos y el uso de *microarrays* de proteínas para la detección de armas biológicas. Nuevas secciones en metagenómica, unión de genomas para generar virus, y nueva información sobre la vacuna contra el virus del papiloma humano, Gardasil.
- **Capítulo 6: Biotecnología vegetal** ofrece actualizaciones sobre cómo las plantas genéticamente modificadas han sustituido a otros cultivos por su mayor resistencia a las plagas, rendimiento más alto, y nuevas aplicaciones en fibras, bioplásticos, biocombustibles y biorremediación. También se incluye nueva información sobre poliploides vegetales, y el uso de material vegetal para hacer rentable la producción de bioetanol.
- **Capítulo 7: Biotecnología animal** actualiza la información sobre el uso de sistemas inmunológicos de ratones parcialmente humanos para probar reacciones a medicamentos, el uso de animales transgénicos para producir vacunas, y el uso de biorreactores transgénicos animales para la producción del complejo de proteínas terapéuticas.
- **Capítulo 8: Huella genética y análisis forense** incorpora los cambios sobre los usos de la información forense de secuencias de DNA, la identificación de las víctimas de delitos y catástrofes, el establecimiento o exclusión de relaciones de paternidad, la autentificación de productos alimenticios, y otros aspectos interesantes de los análisis forenses.
- **Capítulo 9: Biorremediación** incluye una nueva sección sobre la genómica de la biorremediación y actualiza información sobre los microbios como productores de combustible, fitorremediación de explosivos, y un ejemplo de un nuevo caso de estudio.
- **Capítulo 10: Biotecnología acuática** ofrece nueva información sobre el uso de la PCR para detectar agentes patógenos en ostras, e información sobre los nuevos productos médicos procedentes de organismos acuáticos.
- **Capítulo 11: Biotecnología médica** incluye información actualizada sobre los enfoques de la terapia génica, incluidos los métodos de antisentido y RNAi, actualizaciones e información nueva sobre medicina regenerativa e ingeniería tisular, investigación con células madre y su legislación y evolución reciente, y *microarrays* y farmacogenómica.
- **Capítulo 12: Regulación en biotecnología** incorpora nueva información sobre patentes de secuencias de genes y compara visiones globales de la clonación humana y el uso de células madre con la postura de Estados Unidos.
- **Capítulo 13: Ética y biotecnología** fue reescrito para proporcionar información actualizada sobre los alimentos genéticamente modificados, la Ley de no discriminación por la información genética, y los reglamentos sobre células madre. También incluye una nueva sección sobre los derechos de los pacientes y materiales biológicos y tres nuevos *Tú decides*.

Ayudas complementarias para el aprendizaje

Introducción a la web adjunta de biotecnología (www.pearsonhighered.com/biotechnology)

El sitio web adjunto está diseñado para ayudar a los estudiantes a preparar los exámenes y profundizar en su comprensión sobre el contenido del texto. Cada capítulo contiene objetivos de aprendizaje, revisiones de contenido, vocabulario, términos del glosario, archivos jpg de las figuras, y una extensa colección de *Enlaces Web Actuales* que exploran temas relacionados con otras áreas.

Centro de Recursos para el Educador

El Centro de Recursos para el Educador www.pearsonhighered.com/educator está diseñado para apoyar a los educadores en la enseñanza de la biotecnología. Este centro es un recurso en línea que apoya y amplía el material del libro de texto. Los nuevos suplementos disponibles incluyen:

- **Banco de test informatizado**: 10-20 cuestionarios tipo test por capítulo.
- **Archivos jpg**: archivos electrónicos de todos los cuadros de texto, dibujos y fotos.
- **Esquemas en PowerPoint**: un conjunto de presentaciones en PowerPoint que consisten en resúmenes de cada capítulo acompañadas por ilustraciones de los conceptos clave.

Los educadores que utilizan *Introducción a la biotecnología* pueden ponerse en contacto con los representantes de ventas de Benjamin Cummings para acceder al Centro de Recursos para educadores de forma gratuita.

Agradecimientos

Un libro de texto es el resultado de la colaboración del trabajo duro de muchas personas dedicadas a ello, entre ellos estudiantes, colegas, editores y redactores, expertos gráficos, y muchos otros. En primer lugar, damos las gracias a nuestra familia y amigos por su apoyo y aliento, mientras pasamos innumerables horas de nuestras vidas en este proyecto. Sin su comprensión y paciencia, este libro no sería posible.

Agradecemos la ayuda de muchas personas de gran talento en Benjamin Cummings, en particular al personal editorial. Las tareas editoriales han cambiado varias veces durante la preparación de esta edición, pero cada editor ha puesto todo su talento creativo y dedicación al libro. Damos las gracias a Mercedes Grandin por su orientación y ayuda con las revisiones durante la transición entre las ediciones. La editora de adquisiciones Becky Ruden ha sido la fuerza orientadora para la segunda edición y estamos en deuda con ella por creer en la misión del libro y por su visión para apoyar y mejorar el texto. La dirección de Becky ha sido exactamente lo que este proyecto necesitaba, y ha sido un gran apoyo. Damos las gracias a la editora de proyectos Leata Holloway por mantenernos en la fecha prevista y por su atención a los detalles, su paciencia, entusiasmo, sugerencias de redacción y su gran energía para el proyecto.

Damos las gracias al Supervisor de Producción Lori Newman, que nos guió a lo largo del proceso de producción. Agradecemos a la Directora Ejecutiva de Marketing Lauren Harp por su talento y sus contribuciones creativas en el desarrollo de la promoción de materiales para este libro. Maureen Spuhler, Investigadora artística, hizo un estupendo trabajo identificando y garantizando dibujos clave y proponiendo alternativas. Agradecemos a Maria McColligan, Directora de proyectos en Nesbitt Graphics, Inc., por su experto trabajo en la primera y segunda edición de los libros de texto. También nos gustaría dar las gracias al diseñador gráfico Leeds Rich de Big Wig que añadió un nuevo aire más fresco a la 2.ª edición y Anne Lesser por su experta corrección.

Los estudiantes de pregrado de la Universidad de Monmouth leyeron muchos borradores del manuscrito de la primera y la segunda edición e hicieron sus críticas de los dibujos, en función de su claridad y contenido. Damos las gracias a los antiguos alumnos en BY 201 - Introducción a la Biotecnología por sus sinceras opiniones, la corrección de errores y las sugerencias desde la perspectiva de un estudiante. En particular, damos las gracias a Monica Gionet, que fue especialmente hábil en aclarar ciertos puntos antes de completar la segunda edición. También damos las gracias a Robert Sexton, graduado por la Universidad de Monmouth, por contribuir a la sección Perfil profesional del Capítulo 3. En 2002, estudiantes de la clase de Introducción a la Biotecnología de la Universidad de Ventura nos dieron muchas sugerencias útiles mientras soportaban el uso de las «figuras esquemáticas» en PowerPoint, que fueron el resultado de nuestro primer borrador. Nuestros estudiantes nos inspiran a luchar por encontrar mejores maneras para enseñar y ayudar a comprender las maravillas de la biotecnología. Les aplaudimos por su ayuda en la creación de lo que esperamos que los futuros estudiantes consideren un libro de texto fácil.

También agradecemos al Dr. Daniel Rudolph por su contribución al Perfil profesional del Capítulo 5 (Biotecnología microbiana) y a Gef Flimlin por el Perfil profesional del Capítulo 10 (Biotecnología acuática).

Por último, *Introducción a la Biotecnología* se ha beneficiado en gran medida de la valiosa aportación de muchos colegas y profesores que nos ayudaron con su precisión científica, claridad, aspectos pedagógicos del libro y sugerencias para la mejora de cada capítulo. Los numerosos profesores que han desarrollado cursos y programas de biotecnología, y enseñan con entusiasmo los aspectos más y menos importantes de la biotecnología, nos ofrecieron revisiones del texto y los dibujos, que ha sido de incalculable valor para ayudar a dar forma a este libro de texto. Su crítica constructiva nos ayudó a revisar los borradores de cada capítulo, y sus ánimos nos ayudaron a seguir adelante. Todos los errores u omisiones en el texto son nuestra responsabilidad. Les damos las gracias a todos ustedes y esperamos que continúen sus observaciones.

Los revisores de *Introducción a la Biotecnología*, son:
Para la segunda edición:

Steve Benson *California State University East Bay*
Ming-Mei Chang *SUNY Genesco*
Jim Cheaney *Iowa State University*
Peter Eden *Marywood University*
Timothy S. Finco *Agnes Scott College*
Mary A. Farwell *East Carolina University*
James T. Hsu *Lehigh University*
Lisa Johansen *University of Colorado, Denver*
Michael Lawton *Rutgers University*
Caroline Mackintosh *University of Saint Mary*
Toby Mapes *A B Tech Community College*
Patricia Phelps *Austin Community College*
Ronald Raab *James Madison University*
Melody Ricci *Victor Valley College*
Bill Sciarrapa *Rutgers University*
Salvatore A. Sparace *Clemson University*
Janice Toyoshima *Evergreen Valley College*
Dennis Walsh *Massachusetts Bay Community College*
Lianna Wong *Santa Clara University*

Para la primera edición:

D. Derek Aday *Ohio State University*
Marcie Baer *Shippensburg University*
Joan Barber *Delaware Tech & Community College*
Theresa Beaty *LeMoyne College*
Peta Bonham-Smith *University of Saskatchewan*
Krista Broten *University of Saskatchewan*
Heather Cavenagh *Charles Sturt University*
Wesley Chun *University of Idaho*
Mark Flood *Fairmont State College*
Kathryn Paxton George *University of Idaho*
Joseph Gindhart *University of Massachusetts, Boston*
Jean Hardwick *Ithaca College*
George Hegeman *Indiana University, Bloomington*
Anne Helmsley *Antelope Valley College*
David Hildebrand *University of Kentucky*
Paul Horgen *University of Toronto at Mississauga*
James Humphreys *Seneca College of Applied Arts & Technology*
Tom Ingebritsen *Iowa State University*
Ken Kubo *American River College*
Theodore Lee *SUNY Fredonia*
Edith Leonhardt *San Francisco City College*
Lisa Lorenzen Dahl *Iowa State University*
Keith McKenney *George Mason University*
Timothy Metz *Campbell University*
Robert Pinette *University of Maine*
Lisa Rapp *Springfield Technical Community College*
Stephen Rood *Fairmont State College*
Alice Sessions *Austin Community College*
Carl Sillman *Pennsylvania State University*
Teresa Singleton *Delaware State University*
Sharon Thoma *Edgewood College*
Danielle Tilley *Seattle Community College*
Jagan Valluri *Marshall University*
Brooke Yool *Ohlone College*
Mike Zeller *Iowa State University*

Tanto si eres estudiante como profesor, te invitamos a hacernos comentarios y sugerencias para mejorar la próxima edición de *Introducción a la Biotecnología*. Por favor, escríbenos a las siguientes direcciones o ponte en contacto con nosotros a través de un e-mail a bc.feedback@pearsoncom.

Bill Thieman
Ventura College
Department of Biology
4667 Telegraph
Ventura, CA 93003
BThieman@vcccd.edu

Michael Palladino
Monmouth University
School of Science, Technology and Engineering
Department of Biology
400 Cedar Avenue
West Long Branch, NJ 07764
www.monmouth.edu/mpalladi

Como estudiantes que somos nosotros mismos, seguimos también aprendiendo cada día más sobre la biotecnología. ¡Te deseamos un gran éxito en tus estudios de biotecnología!

W. J. T.
M. A. P.

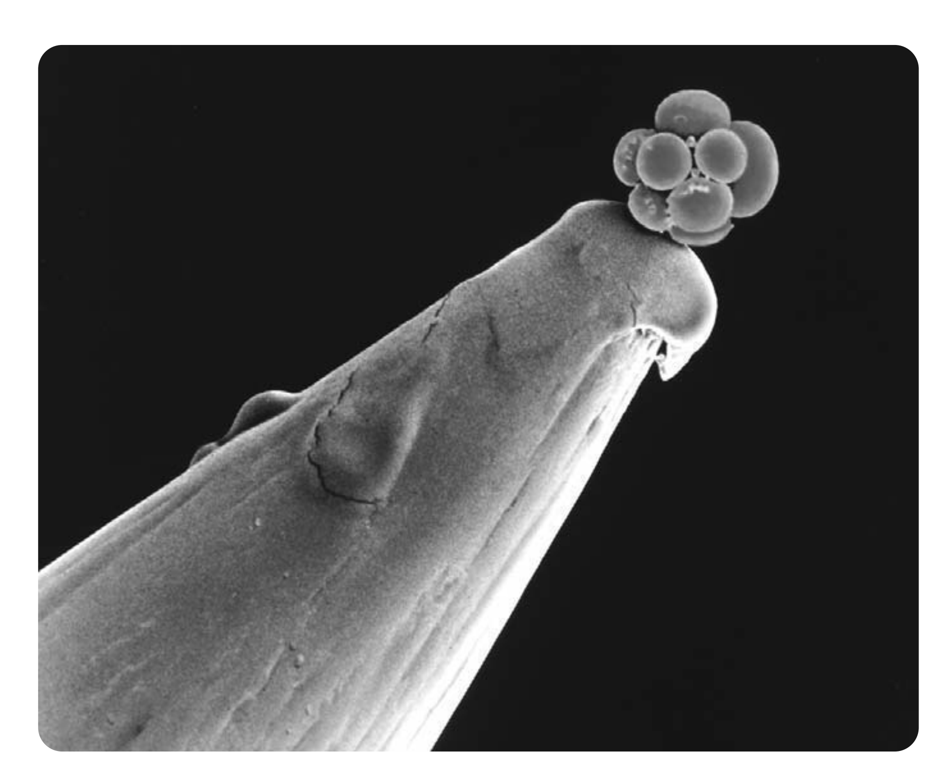
Contenidos

Capítulo 1

El siglo de la biotecnología y su capital humano

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Definir biotecnología y comprender las diferentes disciplinas científicas que la integran.
- Dar ejemplos históricos y actuales de las aplicaciones de la biotecnología y sus productos.
- Enumerar y describir diferentes tipos de biotecnología y sus aplicaciones.
- Dar ejemplos de potenciales avances en biotecnología.
- Analizar en qué medida cambiarán los diagnósticos médicos como resultado de la biotecnología y dar ejemplos de cómo se usarán los datos del Proyecto del Genoma Humano para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades.
- Entender que hay pros y contras en biotecnología y asuntos polémicos en este campo.
- Describir las categorías y opciones profesionales de la biotecnología.
- Desarrollar una comprensión de algunas destrezas y aprendizajes importantes necesarios para formar parte del capital humano de la biotecnología.
- Analizar tendencias en alza en la industria de la biotecnología.



¿Células milagro? Este diminuto racimo en la punta de un alfiler es un embrión humano unos tres días después de su fecundación. Algunos científicos creen que las células madre de los embriones pueden tener el potencial de tratar y curar gran variedad de enfermedades humanas por medio de la biotecnología. El uso de estas células es también uno de los temas de mayor controversia en biotecnología.

Si alguna vez has comido un *snack* de maíz, te habrás quedado impresionado por la biotecnología. ¿No comes *snacks*? ¿Y nata, yogur, queso o leche? En este siglo, cada vez serán más los alimentos que estarán producidos por organismos que han sido alterados genéticamente a través de la biotecnología. Estos **alimentos transgénicos** (*genetically modified,* GM), al igual que los embriones humanos como el de la imagen de apertura de este capítulo, han suscitado una gran polémica durante los últimos años. Este capítulo se ideó para proporcionarte una introducción básica sobre la increíble variedad de temas que aborda la biotecnología y que leerás a lo largo del libro. Como verás, la biotecnología es una ciencia multidisciplinar con muchas aplicaciones potenciales y futuros descubrimientos.

El objetivo de este capítulo no es hacer un repaso exhaustivo de la historia de la biotecnología y sus aplicaciones actuales, sino presentar una breve introducción y un vistazo sobre muchos temas que se analizarán con más detalle en próximos capítulos. Comenzamos por definir biotecnología y presentar una visión de conjunto de las diferentes disciplinas que forman parte de este campo. Destacamos tanto las aplicaciones históricas como las actuales y definimos los diferentes tipos de biotecnología que estudiarás en este libro. Al final del capítulo, analizaremos aspectos del capital humano de la biotecnología y las destrezas necesarias para trabajar en esta industria. Asegúrate de estar familiarizado con los diferentes tipos de biotecnología y los términos clave que se presentan en este capítulo, ya que serán la base de tus futuros estudios.

1.1 ¿Qué es la biotecnología y qué significa para ti?

¿Alguna vez has comido un tomate Flavr Savr®, te han tratado con anticuerpos monoclonales, has recibido tejido cultivado a partir de células madre embrionarias, o visto un ratón *knockout*? ¿Te has vacunado alguna vez de la gripe? ¿Conoces a alguien con diabetes que necesite inyecciones de insulina? ¿Te has hecho alguna prueba de embarazo? ¿Has tomado alguna vez antibióticos? ¿Has bebido un vaso de vino, comido queso o hecho pan? Aunque no hayas vivido alguna de las primeras situaciones, al menos algunas de las últimas deberían resultarte familiares. Si es así, has visto los beneficios de la biotecnología.

¿Puedes imaginarte un mundo libre de enfermedades graves, donde la comida es abundante para todo el mundo y el medio ambiente está libre de contaminación? Ese panorama es la inspiración de muchos profesionales de la biotecnología para dedicar sus vidas a esta ciencia apasionante. Aunque no entiendas del todo la variedad de disciplinas y los detalles científicos de la biotecnología la has experimentado de primera mano. La **biotecnología** se define comúnmente como el uso de organismos vivos, o los productos de los mismos, para el beneficio humano (o el beneficio de su entorno) con el fin de desarrollar un producto o resolver un problema. Recuerda esta definición. A medida que aprendas más sobre la biotecnología, ampliaremos y refinaremos esta definición con ejemplos históricos y aplicaciones modernas del día a día y miraremos hacia el futuro de la biotecnología.

Estarás en lo cierto si piensas que la biotecnología es una disciplina relativamente nueva, que no hace mucho que ha empezado a polarizar atención. Sin embargo, puede que te sorprenda saber que en cierto modo esta ciencia implica varias prácticas ancestrales. Como señalamos en la siguiente sección, nuevas y viejas prácticas en biotecnología hacen de esta disciplina uno de los campos de la ciencia más emocionantes y dinámicos. Afecta nuestra vida cotidiana y adquirirá incluso más importancia durante este siglo, el que algunos han denominado «el siglo de la biotecnología».

Breve historia de la biotecnología

Si pides a tus familiares y amigos que definan biotecnología, puede que te sorprendan sus respuestas. Probablemente no tengan ni idea de lo que es y te digan que la biotecnología es cosa de científicos de aspecto serio y bata blanca que llevan a cabo experimentos sofisticados y misteriosos de clonaciones en caros laboratorios. Cuando pidas más detalles, no sabrán decirte cómo se realizan esos «experimentos» ni la información que se extrae de ellos o cómo se utiliza. Aunque la clonación de DNA y la manipulación genética de organismos son técnicas modernas interesantes, la biotecnología no es una ciencia nueva. De hecho, muchas aplicaciones son antiguas prácticas con nuevos métodos. El hombre ha utilizado organismos en su beneficio en muchos procesos durante varios miles de años. Los estudios históricos han demostrado que los chinos, griegos, romanos, babilonios y egipcios, entre otros muchos, han hecho uso de la biotecnología desde casi el año 2000 a.C.

La biotecnología no significa cazar animales y recolectar plantas para el sustento; sin embargo, domesticar animales como ovejas y reses para su uso como ganado, es un ejemplo clásico de biotecnología. Nuestros ancestros inmediatos también han sacado provecho de los microorganismos y han utilizado la **fermentación** para hacer pan, queso, yogur y bebidas alcohólicas como la cerveza y el vino. Durante la fermentación, algunas levaduras descomponen azúcares para obtener energía, y en el proceso producen etanol (alcohol) como producto de desecho. Cuando se hace la masa del pan, se añade la levadura (*Saccharomyces cerevisiae,* conocida como levadura de panadero) para que la masa suba. Esto ocurre porque la levadura fermenta el azúcar liberando dióxido de carbono, lo que hace que la masa suba y se creen agujeros en el pan. El alcohol producido por la levadura se evapora cuando se hornea el pan, pero el resto del alcohol permanece en el sabor semidulce de la mayoría de

los panes. Si haces masa de pan o *pizza* en casa, seguro que le habrás añadido *S. cerevisiae* comprada en una tienda presentada en un sobre o bote. Como verás cuando analicemos la biotecnología microbiana en el Capítulo 5, existen procesos semejantes muy valiosos en la producción de yogures, quesos y bebidas.

Durante miles de años, el hombre ha utilizado la **crianza selectiva** como una aplicación de la biotecnología para mejorar la producción de los cultivos y ganado para propósitos alimentarios. En la crianza selectiva, los organismos con determinados rasgos se emparejan a propósito para que se reproduzcan. Por ejemplo, las plantas cruzadas que producen el maíz más grande, dulce y tierno es una forma para los granjeros de optimizar sus tierras para producir mejores cosechas (Figura 1.1a). Con los animales de granja se utilizan técnicas similares, por ejemplo con pavos (para criar aves que desarrollen pechugas más grandes y tiernas), vacas, pollos y cerdos. Otro ejemplo sería el cultivo de especies salvajes de plantas, como las lechugas y los repollos, durante muchas generaciones, para producir plantas modernas que se cultiven para el consumo humano. Muchas de estas propuestas son verdaderas aplicaciones genéticas de la biotecnología. Sin darse cuenta y sin la necesidad de caros laboratorios, equipos sofisticados, científicos con doctorados y experimentos planeados, el hombre ha manipulado los genes durante cientos de años.

Seleccionando plantas y animales de rasgos específicos, el hombre está escogiendo organismos con genes útiles y aprovechándose de su potencial genético para su propio beneficio. Recientemente, los científicos del Hospital Infantil de Boston produjeron un pez cebra transparente al que llamaron Casper (Figura 1.1b). Casper se creó cruzando un pez mutante que carecía de pigmento reflejante con otro que carecía de pigmento negro. Los peces cebra son organismos modelo experimentales muy importantes y los científicos creen que Casper será importante para las pruebas de medicamentos y estudios *in vivo* de las células madre y el cáncer. Ya se ha aprobado la utilización de Casper para el estudio de cómo se expanden las células cancerígenas: los científicos inyectaron células tumorales fluorescentes en la cavidad abdominal del pez y pudieron trazar la migración de las células cancerígenas para especificar sus localizaciones en el cuerpo.

Una de las aplicaciones más extendidas y comprendidas de la biotecnología es el uso de los antibióticos. En 1928, Alexander Fleming descubrió que el moho *Penicillium* inhibía el crecimiento de una bacteria llamada *Staphylococcus aureus*, que provoca enfermedades cutáneas en humanos. Los trabajos posteriores de Fleming llevaron al descubrimiento y purificación de la penicilina **antibiótica.** Los antibióticos son sustancias producidas por microorganismos que inhiben el crecimiento de otros microorganismos. En la década de 1940, la penicilina se convirtió en un producto de amplia disponibilidad para el uso médico en el tratamiento de las infecciones bacterianas en personas. En las décadas de 1950 y 1960, los avances


(a)


(b)

Figura 1.1 La crianza selectiva es un ejemplo clásico de biotecnología que sigue siendo común hoy en día (a) Maíz cultivado por crianza selectiva. De izquierda a derecha: teosinte *(Zea canica)*, híbrido cultivado de forma selectiva, y el maíz moderno *(Zea mays)*. (b) «Casper», un pez cebra transparente producido por la crianza selectiva. Véase la Figura 7.3 para observar un pez cebra normal.

en bioquímica y biología celular hicieron posible purificar grandes cantidades de antibióticos de muchas variedades de bacterias. El **conjunto de procesos a gran escala,** en los que los científicos pueden criar bacterias y otras células en grandes cantidades y pueden obtener infinidad de productos útiles, se desarrolló para aislar moléculas comercialmente importantes a partir de microorganismos, como se explicará con más detalle en el Capítulo 4.

Desde la década de 1960, el rápido desarrollo de nuestros conocimientos en biología molecular y genética, ha llevado a nuevas y deslumbrantes innovaciones y aplicaciones de la biotecnología. Según hemos empezado a dilucidar los secretos de la estructura y función del DNA, las nuevas tecnologías han llegado a la **clonación de genes,** la capacidad de identificar y reproducir un gen en concreto, y la **ingeniería genética,** manipular el DNA

de un organismo. A través de la ingeniería genética, los científicos pueden combinar el DNA de diferentes fuentes. Este proceso, llamado **tecnología del DNA recombinante,** se emplea para producir muchas proteínas de uso médico como la insulina, la hormona del crecimiento humano y factores coagulantes. Desde el comienzo, la tecnología del DNA recombinante ha dominado importantes áreas de la biotecnología, como veremos en profundidad al comienzo del Capítulo 3. A lo largo de todo el libro comprobarás que la tecnología del DNA recombinante ha dado lugar a cientos de aplicaciones, incluyendo el desarrollo de plantas resistentes a enfermedades, cultivos de frutas o vegetales de mayor productividad, el «arroz dorado» creado para ser más nutritivo, y una bacteria creada genéticamente capaz de degradar contaminantes medioambientales.

La tecnología del DNA recombinante tiene un importante impacto en la salud humana gracias a la identificación de enfermedades genéticas. El último récord de la tecnología del DNA recombinante lo alcanzó el **Proyecto del Genoma Humano,** un esfuerzo internacional que comenzó en 1990. Uno de los primeros objetivos del Proyecto del Genoma Humano era identificar todos los genes (el **genoma)** contenidos en el DNA de las células humanas y trazar sus localizaciones para cada uno de los 24 cromosomas humanos (cromosomas del 1 al 22 y los cromosomas X e Y). El Proyecto del Genoma Humano supone un potencial ilimitado para el desarrollo de nuevos planteamientos diagnósticos para detectar enfermedades y enfoques moleculares para el tratamiento y cura de las enfermedades genéticas del hombre.

Imagínate las posibilidades. El Proyecto del Genoma Humano puede decirnos la ubicación cromosómica y el código de cada gen humano a partir de genes que controlan los procesos celulares normales y determinan características como el color del pelo o de los ojos, la altura, el peso y hasta un sinnúmero de genes que causan enfermedades genéticas (Figura 1.2). Durante la próxima década y después de ella, seremos testigos de muchos descubrimientos en la genética humana. Como resultado del Proyecto del Genoma Humano, los nuevos conocimientos sobre la genética del hombre tendrán efectos de gran alcance sobre la medicina y ciencia básica en un futuro próximo. En muchos sentidos la comprensión de las funciones de todos los genes humanos es uno de los misterios desconocidos y sin resolver de la biología. Exploraremos estos misterios del genoma en diversos capítulos de este libro.

Como acabas de aprender, la biotecnología tiene una larga y rica historia. Los próximos capítulos están dedicados a explorar los avances de esta materia y mirar hacia lo que depara el futuro. A medida que estudies la biotec-

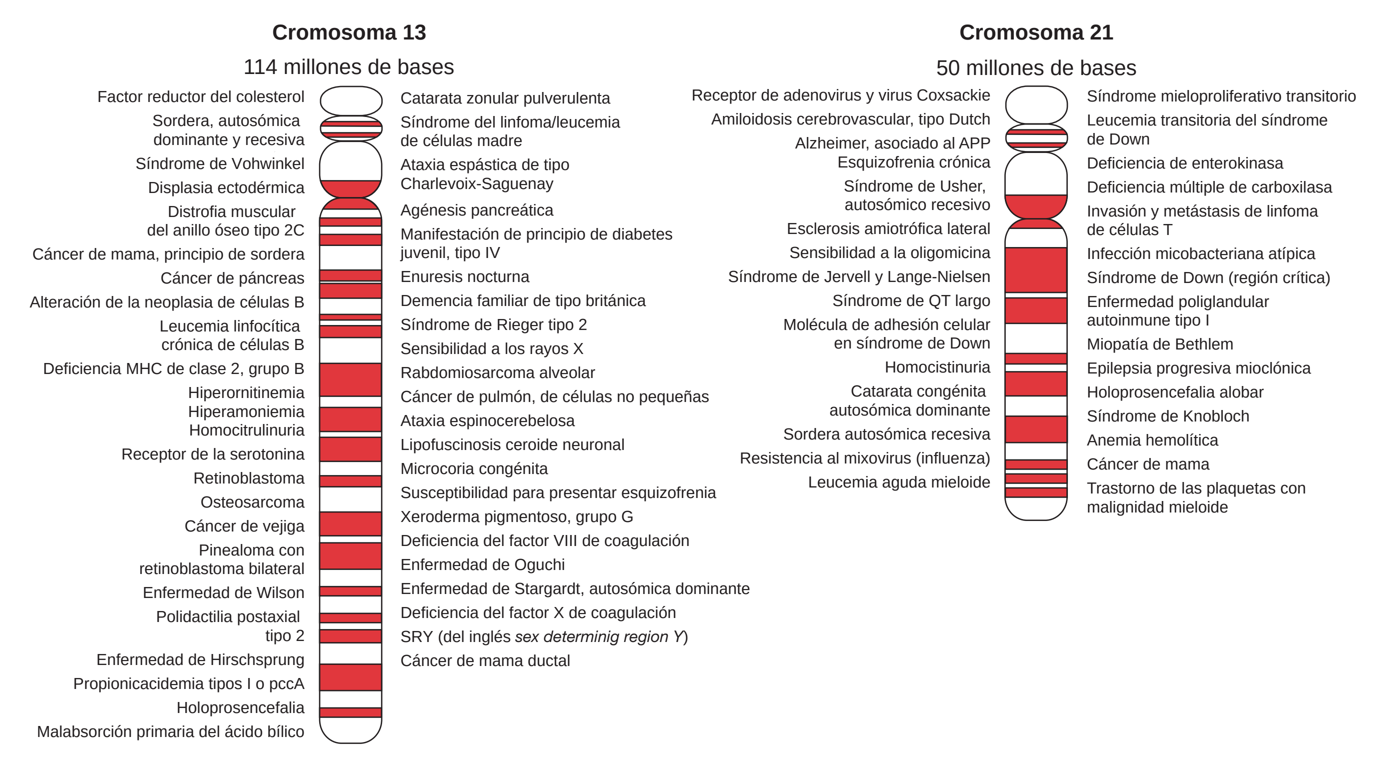


Figura 1.2 Mapa genético de los cromosomas 13 y 21 El Proyecto del Genoma Humano ha conducido a la identificación de casi todos los genes humanos y ha trazado su localización en cada cromosoma. Los mapas de los cromosomas 13 y 21 indican aquellos genes conocidos por estar implicados en enfermedades genéticas. Identificar estos genes es un primer paso importante hacia el desarrollo de tratamientos para muchas de esas enfermedades.

nología, te encontrarás con un abrumador número de términos y definiciones. Asegúrate de utilizar el índice y el glosario del final del libro para que te ayuden a encontrar y definir términos importantes.

Biotecnología: una ciencia de muchas disciplinas

Uno de los principales retos con los que vas a tropezar cuando estudies biotecnología será el de intentar ensamblar información compleja de muchas disciplinas científicas diferentes. Es imposible hablar de biotecnología sin considerar las importantes contribuciones de diversos campos de la ciencia. Aunque un primer enfoque de la biotecnología involucra el uso de la biología molecular para llevar a cabo aplicaciones de ingeniería genética, la biotecnología no es una disciplina de estudio única y limitada. Más bien es un campo amplio que en gran medida depende de las contribuciones de muchas áreas de biología, química, matemáticas, informática e ingeniería, además de otras disciplinas como la filosofía y la economía. Más adelante, en este capítulo, consideraremos cómo la biotecnología es una fuente de oportunidades de empleo para aquellas personas que tienen conocimientos de diversas materias.

La Figura 1.3 muestra un diagrama de las diversas disciplinas involucradas en la biotecnología. Observa que las «raíces» están formadas en primer lugar por el estudio de las **ciencias básicas,** la investigación de procesos fundamentales de organismos vivos a nivel bioquímico, molecular y genético. Cuando se ensamblan las investigaciones de las ciencias básicas de muchas áreas, con la ayuda de la informática, podemos llegar a planteamientos de ingeniería genética. En la copa del árbol, las apli-

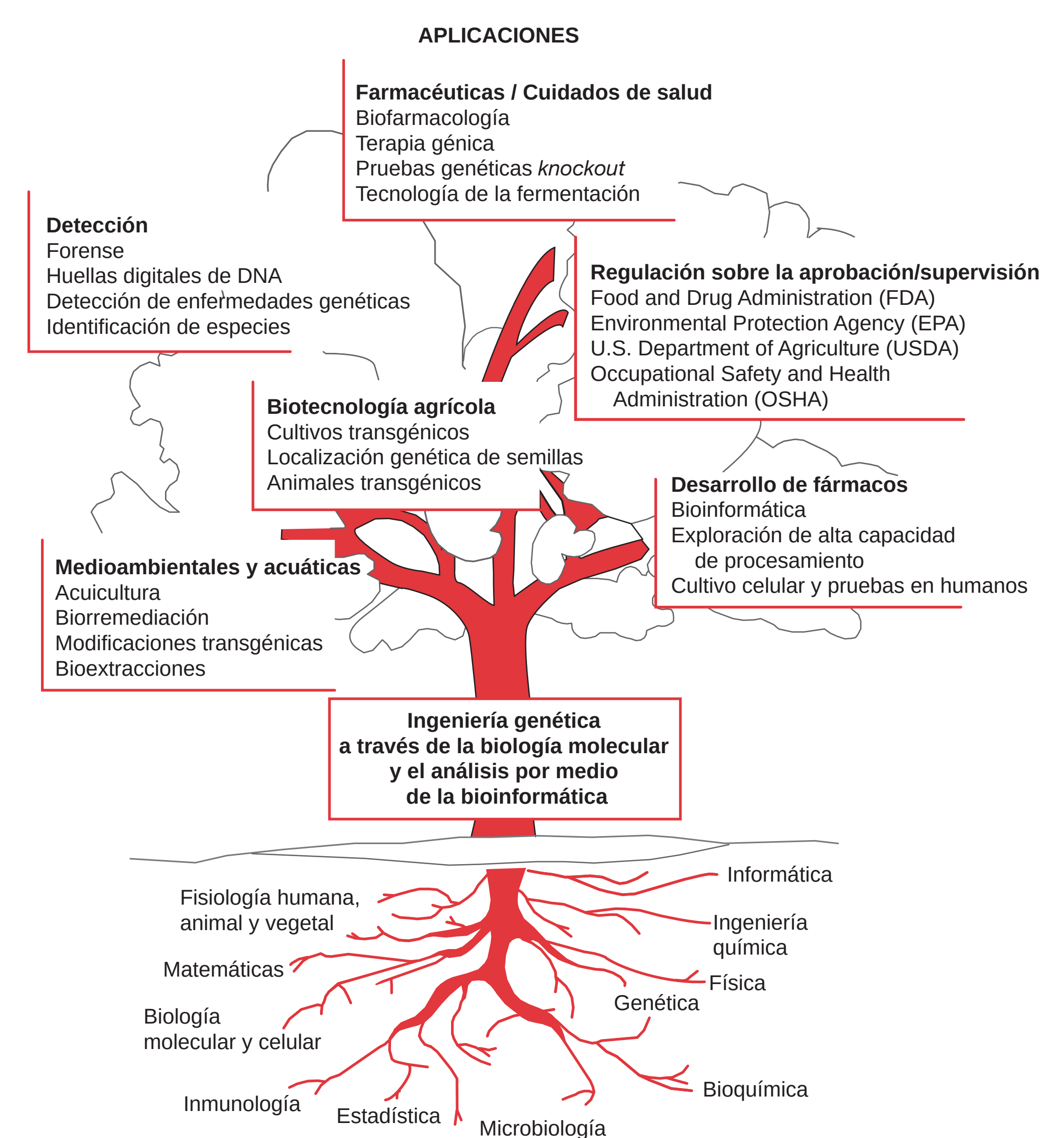


Figura 1.3 Árbol de la biotecnología: disciplinas que contribuyen en la biotecnología Las ciencias básicas son los fundamentos o «raíces» de todos los aspectos de la biotecnología. El enfoque central o el «tronco» de la mayoría de las aplicaciones biotecnológicas es la ingeniería genética. Las ramas del árbol representan diferentes organismos, tecnologías y aplicaciones que «brotan» de la ingeniería genética y la bioinformática, aspectos básicos de la mayoría de los acercamientos biotecnológicos. La regulación de la biotecnología depende de las agencias gubernamentales como la FDA, USDA, EPA y OSHA, cuyos objetivos y responsabilidades se definirán en el Capítulo 12.

caciones de la ingeniería genética pueden ponerse en marcha para crear un producto o proceso que ayude al hombre o a su entorno vivo.

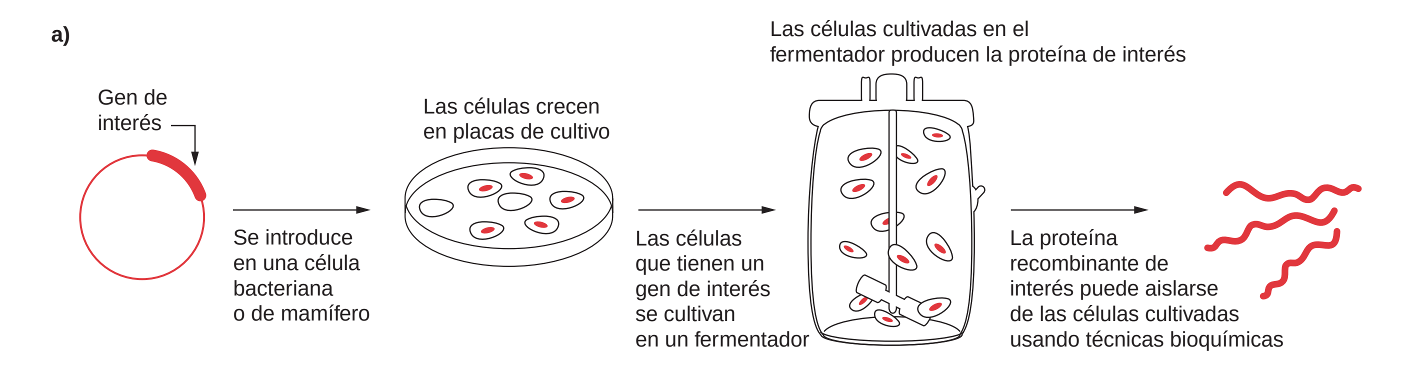
Un ejemplo simplificado de la naturaleza interdisciplinar de la biotecnología puede resumirse de la siguiente forma. En el nivel de la ciencia básica, los científicos que dirigen investigaciones de microbiología en universidades, facultades, agencias gubernamentales y empresas públicas o privadas, pueden descubrir un gen o un producto de un gen en una bacteria que demuestra ser un prometedor agente para el tratamiento de una enfermedad. Normalmente, la bioquímica, la biología molecular y las técnicas genéticas se usarían para entender mejor la función de dicho gen. Este proceso también implica el uso de la informática de forma sofisticada para el estudio de la secuencia de un gen y para analizar la estructura de la proteína que produce el gen. La aplicación de la informática al estudio de datos del DNA y proteínas ha creado un nuevo y apasionante campo llamado **bioinformática.**

Una vez que la investigación básica ha proporcionado una comprensión detallada de este gen, éste puede usarse entonces de diversas formas, incluyendo el desarrollo de medicamentos, la biología agrícola y las aplicaciones medioambientales y marinas (Figura 1.3). La variedad de aplicaciones de la biotecnología se esclarecerá mucho más a medida que profundicemos en su conocimiento. En este punto, recuerda que la biotecnología requiere del conocimiento de muchas disciplinas.

Productos de la biotecnología moderna

A lo largo del libro se consideran muchos productos y aplicaciones de la biotecnología vanguardistas e innovadores. No sólo nos acercamos a los productos para el uso humano, sino que también veremos las aplicaciones biotecnológicas de la microbiología, la biología marina y la biología vegetal, entre otras disciplinas. La multitud de productos de la biotecnología disponibles actualmente es demasiado numerosa para mencionar todas en este capítulo de introducción, sin embargo, muchos productos reflejan las necesidades actuales del hombre, como por ejemplo la producción farmacéutica, es decir, la creación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades del hombre. De hecho, en Estados Unidos, más del 65 por ciento de las compañías biotecnológicas están implicadas en la industria farmacéutica. En 1982 Genentech, una empresa californiana de biotecnología, recibió la aprobación para la fabricación de insulina recombinante, usada en el tratamiento de la diabetes, como el primer producto de la biotecnología en pro del ser humano (Figura 1.4). Actualmente existen cientos de fármacos, vacunas y métodos diagnósticos en el mercado con más de 300 medicinas biotecnológicas en desarrollo cuyo objetivo abarca más de 200 enfermedades. Casi la mitad de los nuevos fármacos en proceso de desarrollo están diseñados para tratar el cáncer. La Tabla 1.1 facilita una breve lista de algunos de los fármacos biotecnológicos más vendidos y las compañías que los desarrollan. El diagnóstico y/o tratamiento de diversas enfermedades y trastornos como el sida, el derrame cerebral, la diabetes y el cáncer, conforman la mayoría de los productos biotecnológicos en el mercado.

Muchos de los productos más utilizados de la biotecnología son proteínas creadas por la clonación de genes (Tabla 1.2). Se llaman **proteínas recombinantes** porque están producidas gracias a las técnicas de clonación genética implicadas en la transferencia de genes de un



b)



Figura 1.4 Uso de células cultivadas modificadas genéticamente para crear una proteína de interés Los genes de interés pueden introducirse en células bacterianas o de mamíferos. Tales células pueden cultivarse utilizando técnicas de cultivo celular. Las proteínas recombinantes aisladas a partir de estas células se utilizan en cientos de diferentes aplicaciones biotecnológicas. En este ejemplo, se muestran células de mamíferos, pero este proceso también suele llevarse a cabo con bacterias.

Tabla 1.1 LOS DIEZ FÁRMACOS BIOTECNOLÓGICOS MÁS VENDIDOS (VENTAS DE MÁS DE 700 MILLONES DE EUROS)

Fármaco	Fabricante	Función (tratamiento de enfermedad)
Procrit	Johnson & Johnson	Anemia
Epogen	Amgen	Anemia
Enbrel	Amgen & Wyeth	Artritis reumatoide
Aranesp	Amgen	Anemia
Remicade	Johnson & Johnson y Schering-Plough Corp.	Artritis reumatoide
Rituxan	Roche Holding Ltd.	Linfoma no Hodgkin
Neulasta	Amgen	Incremento del recuento de glóbulos blancos en pacientes con cáncer
Avonex	Biogen Idec Inc.	Esclerosis múltiple
Neupogen	Amgen & Roche	Incremento del recuento de glóbulos blancos en pacientes con cáncer
Lantus	Sanofi-Aventis	Diabetes

organismo a otro. Por ejemplo, la mayoría de ellas están producidas por genes humanos insertados en bacterias para producir proteínas recombinantes usadas en el tratamiento de enfermedades humanas.

Cómo se clonan genes y se usan para producir proteínas de interés es un tema que veremos con más detalle en el Capítulo 3. Como introducción a este concepto consideremos el diagrama mostrado en la Figura 1.4. Como pronto aprenderás, los científicos pueden identificar un gen de interés y colocarlo en células bacterianas o de mamíferos que se crían por medio de una técnica llamada **cultivo celular.** En el cultivo celular, las células se crían en placas o matraces dentro de un medio líquido de cultivo diseñado para facilitar los nutrientes necesarios para el crecimiento celular. Ya que sólo se puede cultivar un número limitado de células en placas de cultivo pequeñas, las células se transfieren a grandes contenedores de cultivo llamados **fermentadores** o **biorreactores,** donde las células que contienen DNA de interés pueden producirse en masa. Usando las técnicas detalladas en el Capítulo 4, los científicos pueden cultivar la proteína producida por el gen de interés a partir de esas células y utilizarlas en aplicaciones como las descritas en la Tabla 1.2.

Si las Tablas 1.1 y 1.2 no te parecen claros ejemplos de la importancia de la biotecnología en la salud, considera que, en un futuro cercano, los genes se introducirán de forma rutinaria en las personas igual que se utilizan aproximaciones de terapia génica para tratar y curar enfermedades. La genética y la ingeniería de los tejidos pueden conducir a la capacidad de hacer órganos para trasplantes que rara vez serían rechazados por el receptor. Los nuevos productos de la biotecnología procedentes de organismos marinos se usarán para tratar cánceres, derrames cerebrales y artritis. Los avances modernos en medicina, derivados de los nuevos conocimientos procedentes del Proyecto del Genoma Humano, posiblemente generarán vidas más sanas y un incremento potencial de la esperanza de vida.

Tabla 1.2 EJEMPLOS DE PROTEÍNAS OBTENIDAS A PARTIR DE GENES CLONADOS

Producto	Aplicación
Activador tisular de plasminógeno	Tratamiento de ataques al corazón y derrame cerebral
Anticuerpos monoclonales	Diagnóstico y tratamiento de varias enfermedades, entre ellas el cáncer
Factor de crecimiento epidérmico	Estimulador del factor de la producción de anticuerpos en pacientes con alteraciones del sistema inmunitario
Factor sanguíneo VIII (factor de coagulación)	Tratamiento de la hemofilia
Hormona del crecimiento	Corrección de deficiencias de la pituitaria y baja estatura en humanos, otras formas se usan en vacas para incrementar la producción de leche
Insulina	Tratamiento de la diabetes mellitus
Interferones	Tratamiento del cáncer y enfermedades virales
Interleuquinas	Tratamiento del cáncer y estimulación de la producción de anticuerpos

PyR

P ¿Qué productos podrían fabricarse mediante el cultivo de células transgénicas?

R Las proteínas humanas terapéuticas necesarias en masa se producen mediante el cultivo de células transgénicas. La insulina, los factores de coagulación sanguínea y las hormonas, como la hormona del crecimiento utilizada para tratar el enanismo, se encuentran entre los muchos ejemplos de proteínas producidas de esta forma. Muchas otras enzimas que utilizamos habitualmente también se consiguen gracias a esta tecnología.
La renina, una enzima necesaria para la elaboración de queso, es un buen ejemplo. En el pasado, la renina se aislaba a partir del estómago del ternero. Por medio de la clonación y la expresión de la renina en bacterias, la tecnología del DNA recombinante permite ahora que se produzca renina de forma barata, en grandes cantidades y sin tener que sacrificar terneros para este fin.

Ética y biotecnología

Al igual que en cualquier otro tipo de tecnología, las poderosas aplicaciones y potenciales usos de la biotecnología levantan muchas conciencias éticas, y no debería sorprenderte que no todo el mundo sea un fan de la biotecnología. Las implicaciones éticas, legales y sociales de la biotecnología son causa de grandes debates y diálogos entre científicos, público general, religiosos, políticos, abogados y muchos otros colectivos (Figura 1.5). A lo largo de este libro, presentamos temas éticos, legales y sociales para que los tengas en cuenta. Cada vez afrontarás mayor número de temas éticos en biotecnología que te pueden influenciar directamente. Por ejemplo, ahora que la clonación de organismos se ha llevado a cabo en mamíferos como ovejas, vacas y monos, se ha sugerido que debería permitirse la clonación humana. ¿Qué opinas personalmente ante esta idea? Si en el futuro, tú y tu cónyuge no pudierais tener hijos por ningún otro medio, ¿te gustaría tener la oportunidad de tener un bebé gracias a la clonación? En los cuadros «Tú decides» de cada capítulo te presentamos situaciones o dilemas éticos para tu propia consideración. Date cuenta de que hay pros y contras y temas de controversia asociados con casi todas las aplicaciones de la biotecnología. Nuestro objetivo no es decirte lo que tienes que pensar, sino proporcionarte los conocimientos necesarios para que tomes tus propias decisiones.



Figura 1.5 La biotecnología es una ciencia polémica que presenta muchos dilemas éticos

1.2 Tipos de biotecnología

Ahora que sabes la cantidad de campos de la ciencia que contribuyen a la biotecnología, deberías reconocer que hay muchos tipos de biotecnología diferentes. Considera esta sección como una introducción a lo que aprenderás con más profundidad en próximos capítulos.

Biotecnología microbiana

En el Capítulo 5 exploraremos diferentes campos donde la biotecnología microbiana tiene impacto en la sociedad. Como ya hemos visto, el uso de la levadura para hacer cerveza o vino es una de las aplicaciones más antiguas de la biotecnología. A través de la manipulación de microorganismos como bacterias y levaduras, la biotecnología microbiana ha creado mejores enzimas y organismos para hacer muchas comidas, simplificando los procesos de producción y manufacturación, y haciendo más eficientes los procesos de descontaminación para la retirada de los productos de desecho industriales. La lixiviación (*leaching*) de aceite y minerales del suelo para incrementar la eficiencia de la explotación minera es otro ejemplo de la acción de la biotecnología microbiana. Los microbios también se utilizan para clonar y producir grandes cantidades de importantes proteínas para fabricar medicamentos de uso humano, como la insulina y la hormona del crecimiento.

Biotecnología agrícola

El Capítulo 6 está dedicado a la biotecnología de plantas y aplicaciones agrícolas de la biotecnología. En este tipo de biotecnología examinamos gran variedad de temas, desde plantas transgénicas resistentes a las pestes que no necesitan fumigación, hasta alimentos de mayor contenido proteico o vitamínico y medicamentos desarrollados y cultivados como productos vegetales. La biología agrícola ya es un gran negocio de rápida expansión; en Estados Unidos. se estimó que en 2008 tendría un mercado de siete mil millones de dólares.

TÚ DECIDES

Alimentos transgénicos, ¿comer o no comer?

Muchos expertos creen que los alimentos transgénicos son seguros y proporcionarán beneficios significativos en el futuro. Pero la opinión pública sobre el uso y seguridad de estos alimentos no está tan clara. Alrededor de un tercio de los estadounidenses encuestados creen que está mal el uso de métodos científicos, como la tecnología del DNA recombinante, para mejorar el sabor, el color, los aspectos nutritivos y la frescura de los alimentos. Otras encuestas indican que la oposición al uso de alimentos transgénicos llegaría al 50 por ciento. Los escépticos suelen comentar que «los alimentos transgénicos van en contra de la naturaleza», y algunas personas se preocupan sobre los potenciales efectos sobre la salud, como pueden ser las alergias.

Pero parece que los estadounidenses esperan posibles beneficios en el futuro. En una encuesta del año 2000 de Texas A&M, el 65 por ciento de los encuestados indicó que los alimentos transgénicos traerían futuros beneficios. Pudiendo elegir, mucha gente ha señalado que escogería un alimento que no tuviese la etiqueta de transgénico. Esta actitud suscita otra polémica que tendremos en cuenta más adelante, que es si los alimentos transgénicos deberían etiquetarse como tales.

La legislación vigente estadounidense exige que se etiqueten los alimentos transgénicos siempre y cuando puedan suponer un riesgo para la salud o se ha cambiado el valor nutricional del producto. Aunque son pocas las pruebas que apoyan la preocupación de la gente sobre los potenciales riesgos de los alimentos transgénicos, tampoco se han realizado muchos estudios para apoyar o rebatir estas preocupaciones sobre los peligros de estos alimentos. ¿Qué opinas sobre el uso de alimentos transgénicos? ¿Comprarías alimentos transgénicos que necesitasen menos fumigaciones que los alimentos «naturales»? ¿Y si los alimentos transgénicos aguantasen más tiempo frescos? ¿Y si fuesen más nutritivos y baratos? ¿Qué riesgos deberían estar dispuestos a aceptar los consumidores para reconocer los beneficios de los alimentos transgénicos? Antes de dar el primer bocado a los alimentos transgénicos, considera la posibilidad de hacer una lista con las preguntas que te gustaría poder responder. Al fin y al cabo, la decisión es tuya: comer o no comer.



«LOS PRODUCTOS MÁS BARATOS CONTIENEN ALIMENTOS TRANSGÉNICOS SIN APROBACIÓN PARA EL USO HUMANO.»

La manipulación genética de plantas se ha utilizado durante más de 20 años para producir plantas transgénicas con alteraciones de las características de crecimiento como resistencia a sequías, tolerancia al frío y una mayor producción. La investigación de los últimos diez años demuestra claramente que las plantas se pueden modificar para producir gran variedad de proteínas farmacéuticas en diversos tipos de cosechas y tejidos. Las plantas también ofrecen ciertas ventajas sobre las bacterias para la producción de proteínas recombinantes. Por ejemplo, el coste de producir proteínas recombinantes con material vegetal suele ser bastante más bajo que producir proteínas recombinantes en bacterias.

La iniciativa presidencial de energía avanzada (*Presidential Advanced Energy Initiative*) de 2007 para permitir que los biocombustibles mitiguen la «adicción» de Estados Unidos al combustible extranjero ha sido interpretada por los partidarios como que el 25 por ciento de la energía de Estados Unidos debería proceder de las tierras de cultivo para el 2025. Este objetivo requerirá importantes avances en biotecnología para suministrar fuentes de bioetanol diferentes del maíz, ya que no es una fuente de energía eficiente. Los desechos agrícolas, los pastos y otras fuentes de celulosa tendrán que convertirse en eficientes fuentes de energía a través de métodos de descomposición y fermentación resultantes de la biotecnología. Estos desafíos están en camino y se analizan en el Capítulo 6.

El uso de plantas como fuente de productos farmacéuticos es una aplicación de la biotecnología comúnmente conocida como **fabricación molecular.** Por ejemplo, el tabaco es un cultivo no alimenticio que ha sido objeto de muchos años de investigación agrónoma. La planta del tabaco se ha modificado genéticamente para producir proteínas recombinantes en sus hojas, y esas plantas pueden crecer en grandes campos para la fabricación molecular. Esta y otras muchas aplicaciones de la biotecnología agrícola se presentarán en el Capítulo 6.

Biotecnología animal

En el Capítulo 7 examinamos muchas áreas de la biotecnología animal, una de las más interesantes y que más rápido evoluciona. Los animales pueden utilizarse como «biorreactores» para producir productos importantes. Por ejemplo, se están usando cabras, reses, ovejas y pollos como fuentes de proteínas útiles para la medicina como los **anticuerpos,** que son proteínas protectoras que reconocen y ayudan a las células del organismo a destruir material extraño en el cuerpo. Los tratamientos con anticuerpos se utilizan para ayudar a mejorar la inmunidad en pacientes con trastornos del sistema inmunitario. Hay en uso muchas otras proteínas terapéuticas para las personas que se producen a partir de animales, aunque la mayoría de estas proteínas se necesitan en cantidades que exceden los cientos de kilogramos. Para lograr esta producción a gran escala, los científicos pueden crear hembras **animales transgénicas** que expresen proteínas terapéuticas en su leche. Los animales transgénicos contienen genes procedentes de otra fuente. Por ejemplo, los genes humanos de la proteína de la coagulación pueden introducirse en vacas para que produzcan esta proteína en su leche.

Los animales también son muy importantes en las investigaciones básicas. Por ejemplo, los experimentos genéticos de *knockout,* en los que se alteran uno o más genes, pueden ser de ayuda para el aprendizaje de la función de un gen. La intención del *knockout* es alterar un gen y después, viendo las funciones afectadas en un animal como resultado de la pérdida de un gen determinado, definir el papel y la importancia de ese gen. Ya que muchos de los genes que se encuentran en los animales (incluyendo ratones y ratas) también están presentes en el hombre, el aprendizaje sobre la función génica en animales puede conducir a un mayor entendimiento de la función génica en humanos. De forma similar, el diseño y las pruebas de un medicamento y de terapias génicas en animales suele conducir a nuevas estrategias de tratamientos en humanos.

En 1997, los científicos y el público en general se sorprendieron, conmocionaron y recelaron ante el anuncio de que los científicos del Roslin Institute en Escocia habían clonado la ahora famosa oveja Dolly (Figura 1.6). Dolly fue el primer mamífero creado por medio de un proceso de transferencia de núcleos celulares, que veremos en el Capítulo 7. Desde Dolly se han clonado muchos otros animales. Aunque la clonación animal ha suscitado temores y concienciado sobre el potencial de la clonación humana, los científicos están expectantes ante las técnicas usadas para clonar animales por diversas razones. Por ejemplo, estas técnicas pueden llevar a la clonación de animales que contengan órganos transgénicos que puedan trasplantarse en humanos sin los riesgos del rechazo tisular. ¿Te parece buena idea tener un banco de órganos donantes de todas las clases para todos los tipos de personas que necesitan un trasplante? Si la respuesta es sí, no todo el mundo está de acuerdo. La clonación animal y la polémica subyacente a la clonación de organismos son temas importantes que analizaremos en el Capítulo 7.



Figura 1.6 Dolly, el primer mamífero producto de la clonación por transferencia nuclear Dolly posa con su madre de alquiler. Dolly se creó por medio de tecnologías de clonación que pueden llegar a prometer nuevas técnicas para la mejora del ganado y la clonación de animales comercialmente provechosos como aquellos que tienen órganos para los trasplantes humanos. Por desgracia, Dolly desarrolló complicaciones tempranas y fue sacrificada en febrero de 2003.

Biotecnología forense

¿Qué tienen en común O. J. Simpson, la princesa Anastasia, los reclutas de la Armada Estadounidense (*U.S. Army*), los huesos de dinosaurios, las bacterias fecales y los fósiles de hombres australianos de 60.000 años? Como aprenderás en el Capítulo 8, todos han sido objeto de análisis por medio de la biotecnología forense. Las **huellas genéticas,** un conjunto de métodos para la detección del patrón genético único de un organismo, es una herramienta primordial de la biotecnología forense (Figura 1.7). La biotecnología forense es una poderosa herramienta para el cumplimiento de la ley que puede llevar a la inclusión o exclusión de una persona como sospechoso, basándose en las pruebas de DNA. Las huellas genéticas pueden realizarse utilizando rastros de tejido, pelo, sangre o fluidos corporales dejados en la escena de un crimen. Se usó por primera vez en 1987 para declarar culpable a un violador en Inglaterra, pero ahora se utiliza habitualmente como prueba en los tribunales de todo el mundo para condenar a criminales, así como

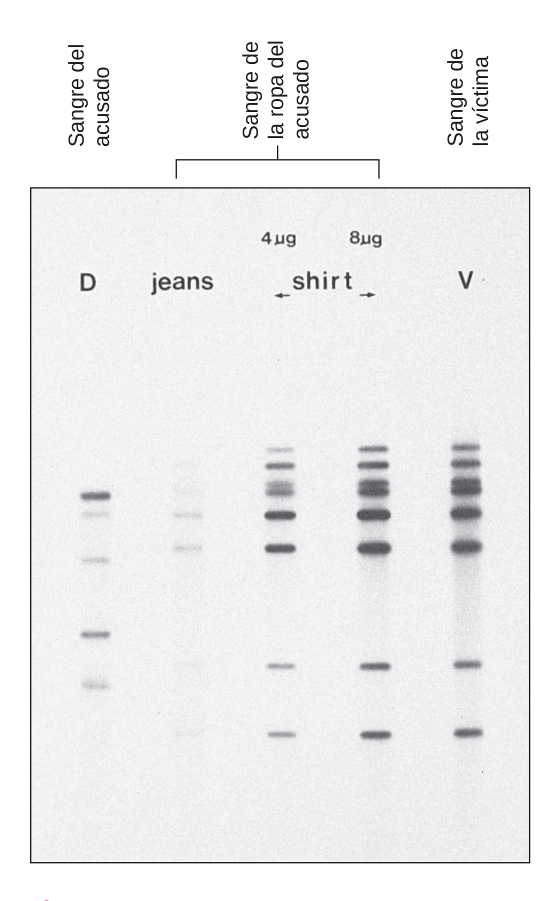


Figura 1.7 Huella genética en un caso de homicidio Esta foto muestra los resultados de las técnicas de rastreo de DNA (que aprenderás en el Capítulo 8) comparando el DNA de la mancha de sangre de la ropa del acusado con la huella genética de la sangre de la víctima. La huella genética no siempre puede usarse para determinar de forma definitiva que una persona acusada ha cometido un delito. En este caso, la huella genética aportó la prueba de que el acusado podía relacionarse con la escena del crimen, lo que no significa que sea el culpable del homicidio.

para liberar a aquellas personas implicadas erróneamente en un delito. Esta técnica también se emplea en casos de paternidad y para reconocer restos humanos.

Otra aplicación es la identificación genética de especies en peligro de extinción. Esta práctica ya ha reducido la caza furtiva y condenado a criminales por el análisis de las huellas genéticas de sus «presas». Los científicos también utilizan la identificación genética para seguir el curso y confirmar la expansión de enfermedades como *Escherichia coli* en carnes contaminadas, o el sida, la meningitis, la tuberculosis, la enfermedad de Lyme y el virus del Nilo Occidental. Hace poco una compañía francesa incluso desarrolló una prueba de expresión génica diseñada para determinar si productos alimenticios caros contienen misteriosos sustitutos cárnicos baratos de especies como gatos y anguilas.

Biorremediación

En el Capítulo 9, hablaremos de la **biorremediación,** el uso de la biotecnología para procesar y degradar varias sustancias naturales y artificiales, en concreto aquellas que contribuyen a la contaminación del medio ambiente. La biorremediación se está empleando para limpiar muchos peligros medioambientales derivados del progreso industrial. Muchos procesos de la biorremediación dependen de aplicaciones de la biotecnología microbiana. En la década de 1970, la primera patente estadounidense de un microorganismo transgénico se concedió a Ananda Chakrabarty. Chakrabarty y colaboradores desarrollaron un tipo de bacteria capaz de degradar componentes del petróleo crudo. Uno de los ejemplos más mediáticos de la biorremediación en acción tuvo lugar en 1989 tras la marea negra del *Exxon Valdez* en Prince William Sound, Alaska (Figura 1.8). Estimulando el crecimiento de bacterias degradantes del petróleo, que ya estaban presentes en el suelo de Alaska, se limpiaron muchos kilómetros de costa tres veces más rápido de lo que se hubiera tardado solamente aplicando agentes químicos de limpieza. Además, la fuerza de estos últimos habría alterado mucho más el medio.

También tenemos en cuenta cómo se tratan las aguas residuales tanto domésticas como industriales, y analizaremos el valor de metales como el oro, la plata, el cobalto, el níquel y el cinc, que pueden recuperarse del medio a través de la biorremediación. Una vez más, la biotecno-



Figura 1.8 La biorremediación en acción Las cepas de la bacteria *Pseudomonas* se utilizaron para ayudar a limpiar las playas de Alaska tras la marea negra del *Exxon Valdez*. En esta playa, los científicos están aplicando nutrientes que estimularán el crecimiento de *Pseudomonas* para ayudar a acelerar el proceso de biorremediación.

logía microbiana desempeña un papel importante en estos procesos.

Biotecnología acuática

En el Capítulo 10 estudiaremos las enormes posibilidades que brinda el agua en la biotecnología, un medio que cubre la mayor parte de nuestro planeta. Una de las aplicaciones más antiguas de la biotecnología acuática es la **acuicultura,** la cría de pescado y marisco en condiciones controladas para usarlas como fuente de alimento. La trucha, el salmón y el siluro son algunas de las especies más importantes en la acuicultura estadounidense. La acuicultura está ganando popularidad en todo el mundo, especialmente en países en vías de desarrollo. Recientemente se ha estimado que cerca del 30 por ciento de todo el pescado que consumen los humanos en todo el mundo procede de la acuicultura.

En los últimos años han surgido diversos nuevos y fascinantes desarrollos en la biotecnología acuática. Éstos incluyen el uso de la ingeniería genética para producir variedades de ostras resistentes a enfermedades y vacunas contra virus que infectan al salmón y otros pescados. El salmón transgénico se ha creado para que sobreproduzca hormonas del crecimiento y que así crezca a un ritmo extraordinario en un corto período de tiempo, de forma que se disminuye el tiempo y el gasto necesarios para criar salmón para la venta al público (Figura 1.9).

La singularidad de muchos organismos acuáticos es otra atracción para los biotecnólogos. Las bacterias marinas, algas, mariscos, peces y un sinnúmero de organismos de nuestros océanos viven bajo algunas de las condiciones más duras del mundo. El frío extremo, la presión de vivir a grandes profundidades, la alta salinidad y otras características del medio, apenas suponen una barrera ya que los organismos acuáticos se han adaptado a sus entornos difíciles. Como resultado, se cree que tales organismos son ricas y valiosas fuentes de nuevos genes, proteínas y procesos metabólicos que pueden tener importantes aplicaciones para el beneficio humano. Por ejemplo, se ha descubierto que algunas especies de plancton marino y caracoles son fuentes ricas en moléculas antitumorales y anticancerígenas. La investigación está progresando hacia una mejor comprensión de la riqueza de las potenciales aplicaciones de la biotecnología que pueda albergar nuestros medios acuáticos.

Biotecnología médica

Como aprendiste en la Sección 1.1, muchos productos biotecnológicos, como los fármacos y las proteínas recombinantes, se están fabricando para aplicaciones médicas; sin embargo, éstos son sólo unos pocos ejemplos de la **biotecnología médica.** El Capítulo 11 analiza gran variedad de aplicaciones de la biotecnología médica, implicada en todo el espectro de la medicina humana: desde la medicina preventiva hasta el diagnóstico de enfermedades o el tratamiento de las mismas. La biotecnología médica ha dado lugar a un abanico de aplicaciones diseñadas para mejorar la salud del hombre. Más de 325 millones de personas en todo el mundo han recibido la ayuda de fármacos derivados de la biotecnología y las vacunas. Aunque se han diseñado poderosas aplicaciones que ya están en práctica, el siglo de la biotecnología verá algunos de los avances más grandes de nuestra historia en biotecnología médica.

Parece que apenas puede pasar una semana sin ningún gran avance genético nuevo como el descubrimiento de un gen humano implicado en alguna enfermedad. La televisión, los periódicos y las revistas populares infor-

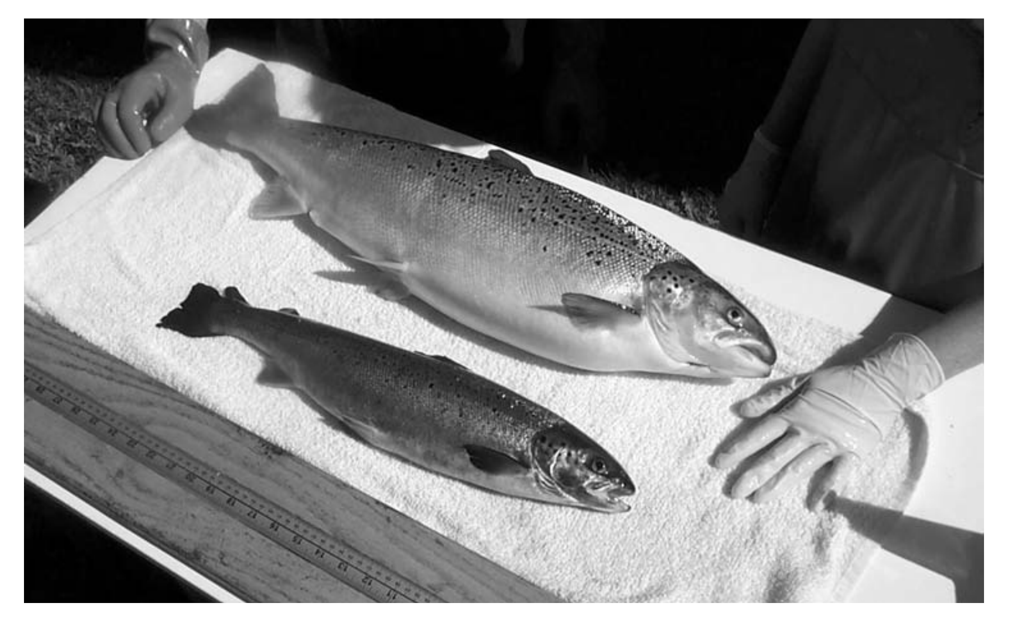


Figura 1.9 La biotecnología acuática es una ciencia en auge Desde el uso de la acuicultura para la cría de marisco y pescado para el consumo humano, hasta el aislamiento de moléculas valiosas desde el punto de vista biológico a partir de organismos marinos para aplicaciones médicas: la biotecnología acuática tiene potencial para una increíble variedad de aplicaciones. Aquí observamos un salmón transgénico (arriba) criado para crecer al tamaño adulto en la mitad de tiempo que un salmón normal (abajo).

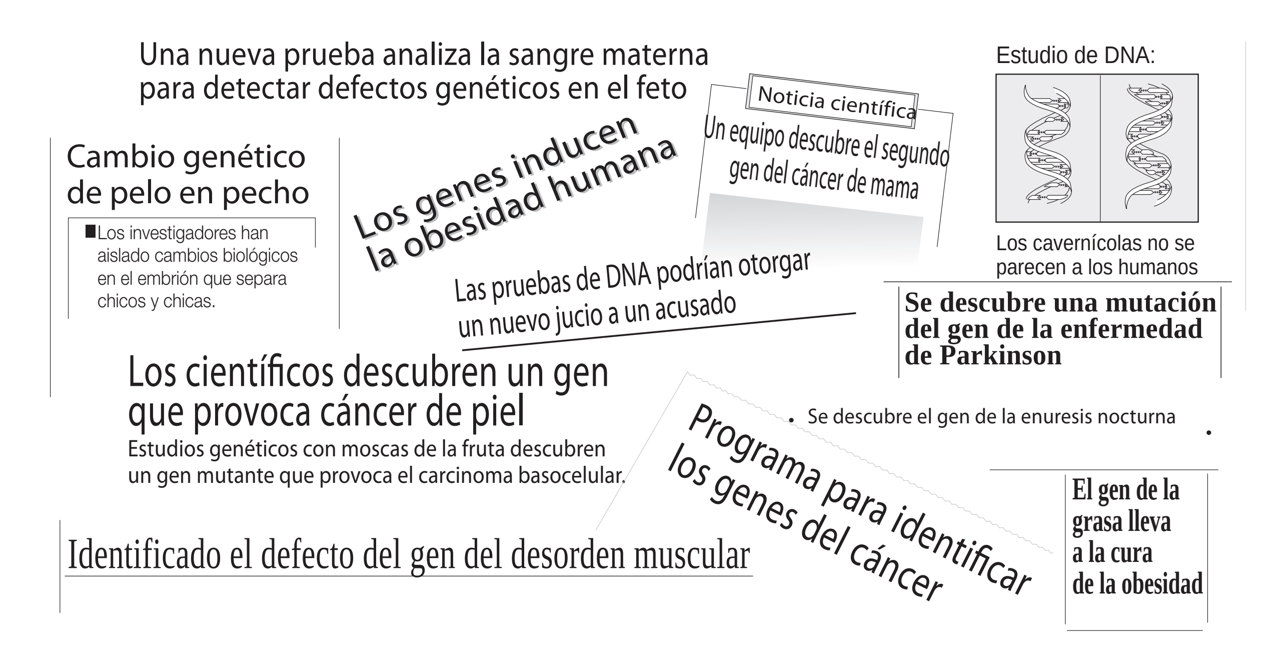


Figura 1.10 Los genes forman parte de los titulares Los titulares de la televisión, los periódicos y las revistas suelen informan sobre importantes descubrimientos de nuevos genes implicados en enfermedades humanas y otras muchas noticias relacionadas con el DNA.

man sobre importantes descubrimientos de nuevos genes y otros titulares relativos al DNA (Figura 1.10). Cada día, nueva información del Proyecto del Genoma Humano ayuda a los científicos a identificar genes defectuosos y descifrar detalles de enfermedades genéticas como la *drepanocitosis,* la enfermedad de Tay-Sachs, la fibrosis quística, cánceres y formas de infertilidad, por citar algunos ejemplos. El Proyecto del Genoma Humano ha dado lugar a nuevas técnicas para que las pruebas genéticas identifiquen genes defectuosos y alteraciones genéticas, muchas de las cuales se verán en este libro.

Las propuestas de la terapia génica, en las que se pueden tratar enfermedades genéticas insertando genes normales en un paciente o reemplazar genes enfermos por genes normales, están siendo las primeras en usarse. En el futuro próximo, se espera que estas tecnologías sean más comunes. La tecnología de **células madre** es una de las aplicaciones más nuevas y prometedoras de la biotecnología médica, pero también está entre las más polémicas de toda la ciencia. Las células madre son células inmaduras que tienen el potencial de desarrollarse y especializarse en células nerviosas, células sanguíneas, musculares, y prácticamente cualquier otro tipo de célula del cuerpo. Las células madre pueden cultivarse en laboratorio y, cuando se tratan con diferentes productos químicos, pueden estimularse para que se desarrollen en diferentes tipos de tejido humano que podrían usarse para el trasplante de tejidos dañados. Existen increíbles aplicaciones potenciales para las células madre pero, como analizaremos en la siguiente sección y en los Capítulos 11 y 13, hay muchos temas científicos y éticos complejos en torno a su uso.

Marco normativo de la biotecnología

Un aspecto muy importante del negocio de la biotecnología lo constituyen los procesos de regulación que rigen la industria. De forma muy parecida a la evaluación de los fármacos en la industria farmacéutica basándose en directrices diseñadas para maximizar la seguridad y efectividad de un producto, la mayoría de los productos de la biotecnología también deben examinarse cuidadosamente antes de aprobar su uso. El proceso de regulación conlleva dos aspectos importantes: el **control de calidad** (*Quality control,* QC) y la **garantía de calidad** (*Quality assurance,* QA). En las medidas de la QA se incluyen todas las actividades para regular la calidad final de un producto, mientras que los procedimientos QC forman parte del proceso de QA que implica pruebas de laboratorio y control de procesos y aplicaciones para asegurar una calidad constante. Desde los procedimientos QA y QC diseñados para asegurar que los productos de la biotecnología alcancen estrictos niveles de calidad en cuanto a pureza y realización, hasta los temas asociados con la concesión de patentes, la resolución de asuntos legales, y los procesos de regulación necesarios para hacer pruebas de los productos en pacientes humanos, se estudiarán en el Capítulo 12.

«Foto de familia» de la biotecnología

Aunque se han descrito diferentes tipos de biotecnología como disciplinas distintas, no pienses en la biotecnología como un área formada por disciplinas separadas y sin relación. Es importante recordar que casi todos los campos

de la biotecnología están estrechamente relacionados. Por ejemplo, las aplicaciones de la biorremediación se basan en el uso de microbios (biotecnología microbiana) para resolver problemas medioambientales. Incluso la biotecnología médica depende del uso de microbios para producir proteínas recombinantes. Una verdadera comprensión de la biotecnología implica el entendimiento de la «foto de familia» de la biotecnología, de cómo ésta involucra muchas áreas diferentes de la ciencia y cómo los diferentes tipos de biotecnología dependen unos de otros. Esta interdependencia de muchas áreas de la ciencia se pondrá a prueba en la resolución de importantes problemas del siglo XXI.

1.3 Retos biológicos del siglo XXI

Son muchos los problemas y retos que podrían resolverse gracias a la biotecnología. Para muchos de esos retos, como la cura de enfermedades mortales, las barreras no son infranqueables. Las respuestas residen en nuestra habilidad para comprender mejor los procesos biológicos y diseñar y adaptar soluciones biotecnológicas. Para algunas aplicaciones que se han usado durante algunos años, la biotecnología es ahora el futuro. Antes de especular sobre las diferentes formas en las que la biotecnología puede afectar a la sociedad durante este siglo (¡tarea imposible!), en esta sección te tentamos con algunas ideas de cómo la biotecnología médica en concreto cambiará nuestras vidas en los próximos años. En capítulos sucesivos exploraremos estas y otras ideas con mucho más detalle.

¿Cómo será el nuevo siglo de la biotecnología?

La Historia mostrará que el año 2001 señaló un hito en la cronología de la biotecnología. En febrero de aquel año, algunos de los biólogos moleculares más célebres del mundo se reunieron en una conferencia de prensa para anunciar la publicación del borrador preliminar del genoma humano, el mayor logro del Proyecto del Genoma Humano. La secuencia genética (leída como las letras A, G, C y T) de los cromosomas humanos estaba casi completa. Una gran sorpresa de esa reunión fue el anuncio de que el genoma humano estaba constituido por mucho menos de 100.000 genes, como se había esperado. Como veremos en otros capítulos, el Proyecto del Genoma Humano se completó en el año 2003 y ha llevado a nuevos descubrimientos en biotecnología fascinantes.

La identificación de la ubicación cromosómica y la secuenciación de todos los genes del genoma humano ha aumentado enormemente nuestra comprensión de la complejidad de la genética humana. Las investigaciones básicas de biología molecular y las funciones de los genes humanos y el control de factores que regulan los genes están esclareciendo cómo dirigen los genes las actividades de las células vivas, cómo funcionan los genes normales y cómo los genes defectuosos son la base molecular de muchas enfermedades del hombre. La comprensión de los genes humanos también nos permitirá estudiar la evolución del hombre, y comparando nuestros genes con los de otras especies como chimpancés, bacterias, moscas e incluso gusanos, desarrollaremos un mejor entendimiento de la relación del ser humano con otras especies.

La comprensión avanzada de las enfermedades genéticas del hombre también transformará la práctica actual de la medicina. En el horizonte se perfila una nueva era en medicina. Pero, ¿realmente el Proyecto del Genoma Humano es una forma rápida y simple de encontrar genes defectuosos y así curar enfermedades de forma fácil y rápida? Si crees que sí, estás subestimando la complejidad de la biología. El genoma humano no es «la bola de cristal biológica» que resolverá todos nuestros problemas médicos. Incluso cuando sepamos exactamente cómo funcionan los genes para crear un cerebro a partir de un huevo fecundado, seguiremos sin saber cómo razona o almacena información el cerebro. La identificación del genoma humano es sólo la punta del iceberg para la comprensión de cómo determinan los genes nuestra salud y susceptibilidad ante enfermedades. Uno de los beneficios de este proyecto estará en su uso para descifrar el **proteoma,** el conjunto de proteínas responsable de la actividad de la célula humana. Incluso ahora que se ha completado el Proyecto del Genoma Humano, los científicos continúan trabajando para descubrir los secretos de cómo funcionan todos los genes humanos, y cómo provocan enfermedades los genes y las proteínas. Una mejor comprensión de las enfermedades humanas requiere el entendimiento de las estructuras y funciones de las proteínas que codifican los genes. Pero ni el genoma ni el proteoma son un programa de *software* que predetermine nuestra salud y nuestra vida. Descubrir los misterios del genoma y proteoma humano sólo hace del siglo XXI la época más fascinante de los descubrimientos científicos.

El panorama futuro: ¿cuáles serán los beneficios del Proyecto del Genoma Humano?

Imagínate la siguiente escena en el año 2015. Un hombre busca consejo en una farmacia local. Hace poco ha sustituido un fármaco por otro, pero no nota mejoría alguna de su artritis con el nuevo medicamento. Le dice al farmacéutico: «Este medicamento es muy caro y no funciona mejor que el otro, pero no quiero malgastarlo ni tirarlo a la basura». «Bueno, a veces los medicamentos no funcionan igual en todas las personas», dice el farmacéutico. Este intercambio representa una de las dificultades de las actuales estrategias de tratamiento. Algunos medicamentos sólo funcionan en determinados pacientes. ¿Cómo ayudará el siglo de la biotecnología a este paciente? El Proyecto del Genoma Humano podría cambiar

la medicina tal y como la conocemos y ayudar a pacientes como éstos.

Actualmente muchas personas sufren el mismo problema que el hombre de la farmacia del que hemos hablado. Los tratamientos sin receta o los prescritos de forma rutinaria para la artritis y otras enfermedades, rara vez funcionan por igual en todos los pacientes. La información del genoma ha sido y seguirá siendo la detección y el diagnóstico rápido, sensible y temprano de las enfermedades genéticas de personas de todas las edades, desde los nonatos hasta la tercera edad. En el caso de la artritis, sabemos que hay diferentes formas de artritis con síntomas similares. Recientes estudios genéticos han revelado que estas diversas formas de la enfermedad están provocadas por diferentes genes. La ampliación de conocimientos sobre las enfermedades genéticas como la artritis conducirá a propuestas de medicina preventiva diseñadas para lograr estilos de vida más saludables y tratamientos nuevos más seguros y efectivos en la cura de enfermedades.

Pensemos en cómo la identificación de los genes que provocan la artritis podría ayudar a nuestro paciente imaginario. Desde sus comienzos, el Proyecto del Genoma Humano brindó beneficios inmediatos en nuestra capacidad de identificar y diagnosticar enfermedades. La identificación de genes que causan enfermedades ha permitido a científicos y médicos investigar una amplia variedad de enfermedades genéticas. Esta capacidad de investigación continuará creciendo en el futuro. Un campo que se espera sea de gran ayuda en el diagnóstico de enfermedades genéticas será el de las aplicaciones relacionadas con los **polimorfismos de nucleótido simple (SNP).** Los SNP son cambios del nucleótido simple o **mutaciones** de las secuencias de DNA que varían entre individuos (Figura 1.11). Estos cambios sutiles representan uno de los ejemplos más comunes de las variaciones genéticas del hombre.

Los SNP representan variaciones de las secuencias de DNA que influyen en la respuesta ante el estrés y enfermedades, y los SNP son el motivo de enfermedades genéticas como la drepanocitosis. La mayoría de los científicos creen que los SNP les ayudarán a identificar algunos de los genes implicados en enfermedades como la artritis, derrame cerebral, cáncer, enfermedades coronarias, diabetes, y trastornos emocionales y del comportamiento, así como multitud de otros desórdenes. Uno de los objetivos del Proyecto del Genoma Humano, que se está logrando, era identificar los SNP y desarrollar mapas de SNP del genoma humano. Un grupo internacional está desarrollando el HapMap, el cual identifica y verifica millones de SNP para compilar una guía universal de variaciones genéticas humanas. Una empresa ya ha genotipado más de cuatro millones de SNP en 270 personas. La importancia de esto puede verse en los fármacos que se han desarrollado para el cáncer de mama. Los dos genes mejor conocidos del cáncer de mama, *BRCA1* y *BRCA2,* poseen alrededor de 1.700 variantes en todo el mundo. Antes de que se conociesen estos genes, todos los cánceres de mama se trataban con la misma quimioterapia tóxico-celular. Ahora disponemos de herceptina, rituxán, Gleevec y Tarceva como tratamientos farmacológicos para poner a prueba a estos dos genes.

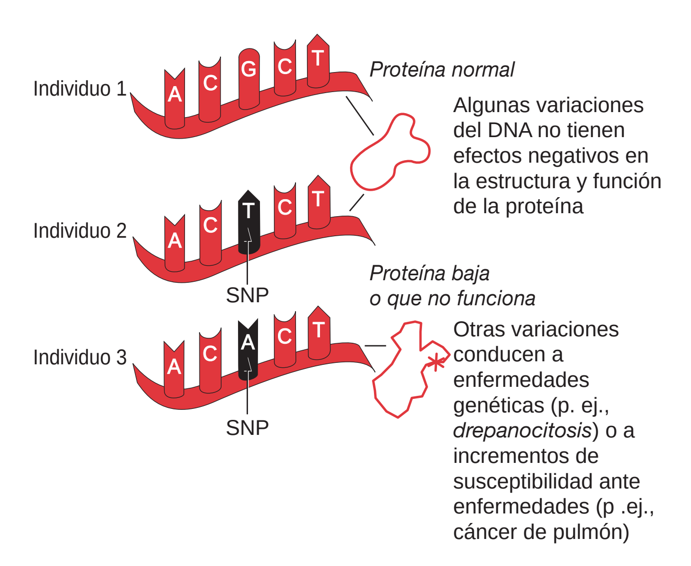


Figura 1.11 Polimorfismos de nucleótido simple
Representación de una pequeña pieza de la secuencia de un gen de tres individuos diferentes. Para simplificar, sólo se muestra una hebra de una molécula de DNA. Cabe destacar cómo el individuo 2 tiene un SNP en este gen, el cual no tiene efectos en la estructura y función de la proteína. Sin embargo, el individuo 3 tiene un SNP en el mismo gen. Este sutil cambio genético puede afectar a la respuesta de la persona ante un medicamento o influir en la probabilidad de que el individuo 3 desarrolle una enfermedad genética.

Poner a prueba el DNA de una persona para diferentes SNP es una forma de identificar genes enfermos que esa persona pueda tener. Una forma de hacer esto es aislar DNA de una pequeña cantidad de sangre del paciente y luego aplicar a esta muestra una **tecnología de microarrays o *microarrays,*** también llamada **chip de DNA.** Como aprenderás en el Capítulo 3, los chips de DNA contienen miles de secuencias de DNA. Empleando un sofisticado análisis computarizado, los científicos pueden comparar diferentes patrones de DNA vinculando el DNA del paciente al DNA del *microarray* para revelar los patrones de SNP de un paciente. Por ejemplo, los investigadores pueden usar *microarrays* o chip de DNA para buscar en el DNA de un paciente un patrón de genes que podrían expresarse en forma de enfermedad como la artritis.

El descubrimiento de los SNP es en parte responsable de la aparición de un campo llamado **farmacogenómica,** un nuevo tipo de biotecnología aún prematuro. La farmacogenómica es en realidad medicina personalizada. Implica una terapia hecha a medida y estrategias de tratamiento basadas en el perfil genético de un paciente, utilizando nuestra información genética para determinar la propuesta de tratamiento más específica y efectiva (véase Figura 1.7). ¿Puede la farmacogenómica resolver nuestros problemas médicos? Ahora mismo, los médicos sólo

pueden hacer suposiciones. Sin embargo, algún día, con las herramientas adecuadas y la información genética del hombre esto cambiará.

La farmacogenómica podría ayudar a nuestro paciente artrítico de la farmacia en el año 2015. Sabemos que la artritis es una enfermedad que muestra herencia familiar en algunos individuos y, como ya se ha mencionado, diversos genes están implicados en diferentes formas de artritis. En muchos otros casos de artritis, no se ve un modo claro de herencia. Puede que haya genes adicionales o factores no genéticos en juego en esos casos. Un simple análisis de sangre de nuestro paciente podría usarse para preparar DNA para un estudio de *microarrays* y de SNP. Esos datos se podrían utilizar para determinar cuáles son los genes implicados en la forma de artritis de nuestro paciente. Basándose en la información genética, un médico podría diseñar una estrategia de tratamiento farmacológico, conociendo los genes implicados, que sería *específica* y la *más eficaz* contra el tipo de artritis de ese hombre. Un segundo hombre con un perfil genético distinto para su particular tipo de artritis podría someterse a un tratamiento diferente. Este es el poder de la farmacogenómica en acción. Se cree que con el tiempo todo el mundo se someterá a un estudio completo del genoma para facilitar información para un tratamiento útil y específico. Por supuesto, tal estudio genético deberá hacerse de forma ética, con la adecuada seguridad e integración del sistema de cuidados de la salud (Figura 1.12).

Los mismos principios de la farmacogenómica deberán aplicarse a otras enfermedades como el cáncer. Como puede que ya sepas, muchos medicamentos que se utilizan actualmente para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer por medio de la **quimioterapia** son efectivos contra las células cancerosas pero también pueden afectar a las células normales. Entre los efectos sobre las células normales se encuentran la pérdida del cabello, la sequedad de la piel, los cambios en el recuento de células sanguíneas y las náuseas. ¿Pero qué pasa si los medicamentos que son efectivos contra las células cancerígenas pudieran diseñarse para que no afectasen a las células normales? Esto será posible a medida que las bases genéticas del cáncer se comprendan mejor y los medicamentos puedan diseñarse basándose en la genética de diferentes tipos de cáncer. Además, la información de los SNP y los *microarrays* podría utilizarse para calcular el riesgo de una persona de desarrollar un tipo determinado de cáncer mucho antes de que empiece a mostrar signos del mismo, especialmente cuando existen antecedentes familiares. Tal información podría utilizarse para ayudar a esa persona a desarrollar cambios en su estilo de vida como hábitos dietéticos y deportivos que serían importantes medidas preventivas.



Figura 1.12 Secretos del genoma humano En el futuro, tendremos un conocimiento sin precedentes de nuestra composición genética incluyendo los SNP y otros marcadores de enfermedades genéticas. ¿Puedes imaginarte las implicaciones éticas, legales y sociales de tal información?

Otro ejemplo de los beneficios del estudio de los diferentes genotipos humanos es el área de la **metabolómica,** una foto bioquímica de las pequeñas moléculas producidas durante el metabolismo celular como la glucosa, el colesterol, el ATP y moléculas marcadoras que resultan de un cambio celular. Esta instantánea refleja directamente el estatus fisiológico y puede emplearse para controlar los efectos del medicamento en los estadios de la enfermedad. Se desconoce el número exacto de enfermedades metabólicas, pero se estima que se han publicado entre 2.000 y 10.000. El uso de esta herramienta puede distinguir entre el proceso de una enfermedad y la adaptación fisiológica y puede ahorrar tiempo y dinero cuando se incorpore el descubrimiento de un medicamento de fase temprana. Por ejemplo, una gran empresa farmacéutica financió recientemente un estudio en el que se alimentaban grupos de ratones con una dieta diseñada para incrementar el colesterol y luego se caracterizaban sus lípidos en el plasma, tejido adiposo e hígado periódicamente durante un número de semanas. Se identificaron más de 500 lípidos «inusuales» como respuesta. Un grupo de ratones era susceptible a la aterosclerosis, facilitando así una buena medida de respuesta diferencial debida a la fisiología de esta enfermedad.

En el Capítulo 11 también analizamos ejemplos de **nanotecnología,** aplicaciones que incorporan dispositivos diminutos (a escala «nano»). La nanotecnología es un campo totalmente nuevo que está surgiendo rápidamente como una gran área de investigación. Una aplicación prometedora de la nanotecnología ha sido el desarrollo de pequeñas partículas que pueden utilizarse para hacer llegar los medicamentos a las células (Figura 1.13).

Además de los avances en los tratamientos farmacológicos, la terapia génica representa una de las últimas estrategias para combatir enfermedades genéticas. Las

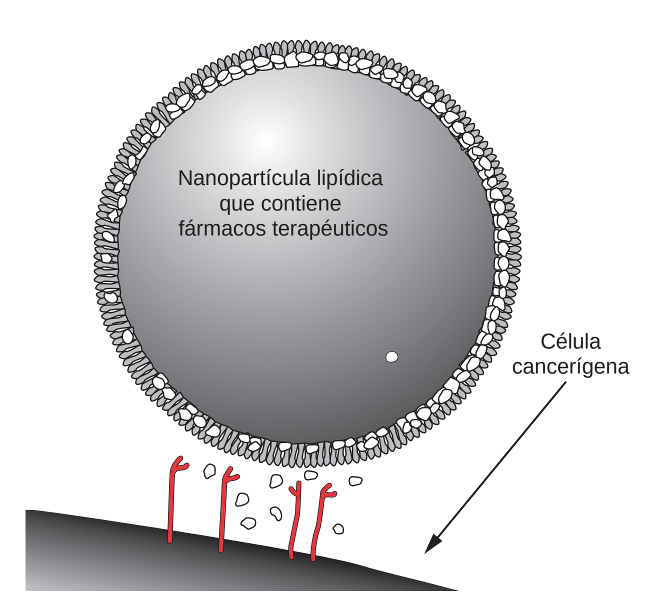


Figura 1.13 Nanotecnología en acción Las nanopartículas que contienen agentes quimioterápicos pueden dirigirse específicamente a células cancerígenas diana aplicándoles una capa de proteínas tumorales específicas que se unen a las células diana. De este modo, los agentes quimioterápicos que no puede atravesar la membrana celular pueden liberarse de forma específica dentro de estas células cancerígenas diana.

tecnologías de terapia génica implican la sustitución o aumento de genes defectuosos con copias normales de un gen. Reflexiona sobre el potencial poder de esta propuesta. Los científicos están trabajando de diversos modos para introducir genes sanos en humanos, como el uso de virus que transporten genes sanos a las células humanas. Se han desarrollado técnicas prometedoras para el tratamiento de algunas alteraciones sanguíneas y enfermedades del sistema nervioso como la enfermedad de Parkinson (Figura 1.13). Sin embargo, hay que franquear muchas barreras antes de que la terapia génica llegue a ser segura, práctica, efectiva y un enfoque bien establecido para tratar enfermedades.

Actualmente existen obstáculos que impiden que la terapia génica esté ampliamente extendida para su uso en humanos. Por ejemplo, ¿cómo se pueden llevar genes normales a casi todas las células del cuerpo? ¿Cuáles son los efectos a largo plazo de introducir genes extra en humanos? ¿Qué hay que hacer para asegurarse de que la proteína normal se produce bien tras la inserción de genes extra en el cuerpo? Como verás en el Capítulo 11, las aplicaciones de la terapia génica están bajo examen continuo siguiendo las complicaciones de diversos pacientes que incluyen la muerte trágica de un paciente, Jesse Gelsinger, quien murió tras un polémico intento de terapia génica en 1999. Otra nueva tecnología fascinante con el potencial de modificar un defecto genético silenciando un gen se ha conseguido con esfuerzo usando **RNA de interferencia** (*small interfering RNA,* siRNA; véase el Capítulo 3 para más detalles de este proceso).

En el futuro, se espera que la tecnología de las células madre facilite potentes herramientas para el tratamiento y cura de enfermedades. Como se vio de forma breve en la Sección 1.2, las células madre son células inmaduras que pueden crecer y dividirse para producir diferentes tipos de células como hepáticas, musculares, dérmicas y sanguíneas. La mayoría de las células madre se obtienen de embriones **(células madre embrionarias** o **ESC**, del inglés *embryonic stem cells*). Algunas ESC pueden asilarse a partir del cordón umbilical de niños recién nacidos. Recientemente, los científicos han aislado con éxito células madre de tejidos adultos **(células madre derivadas de adultos,** *adult-derived stem cells,* o **ASC).**

En el laboratorio, las células madre pueden inducirse para que formen casi cualquier tejido de interés dependiendo de cómo se traten. Imagina que se pudiesen cultivar células dérmicas, sanguíneas, neuronas e incluso tejidos y órganos enteros en laboratorio para reemplazar tejidos dañados u órganos que fallan como páncreas, hígado o retina (Figura 1.14). La **medicina regenerativa** es la expresión que se usa para describir este enfoque. En el futuro, los científicos serán capaces de recopilar células madre de pacientes con alteraciones genéticas, manipularlas genéticamente por medio de la terapia génica y reinsertarlas en el mismo paciente para tratar su enfermedad. Alguna de estas tareas ya es posible, y las tecnologías necesarias se optimizarán en un futuro próximo.

Esperamos que los ejemplos de esta sección hayan demostrado el brillante futuro de avances maravillosos de la biotecnología médica. La farmacogenómica, la terapia génica y las tecnologías con células madre no son la respuesta de todos los problemas genéticos, pero con rápidos y continuos avances en esta tecnología, muchos problemas que parecen imposibles dejarán de serlo. Aquí presentamos ejemplos básicos de aplicaciones médicas del siglo de la biotecnología, pero en futuros capítulos aprenderás sobre las fascinantes aplicaciones en otras áreas de la biotecnología que seguro cambiarán nuestra vida para mejor. Concluimos nuestra introducción al mundo de la biotecnología analizando las oportunidades laborales de esta industria.

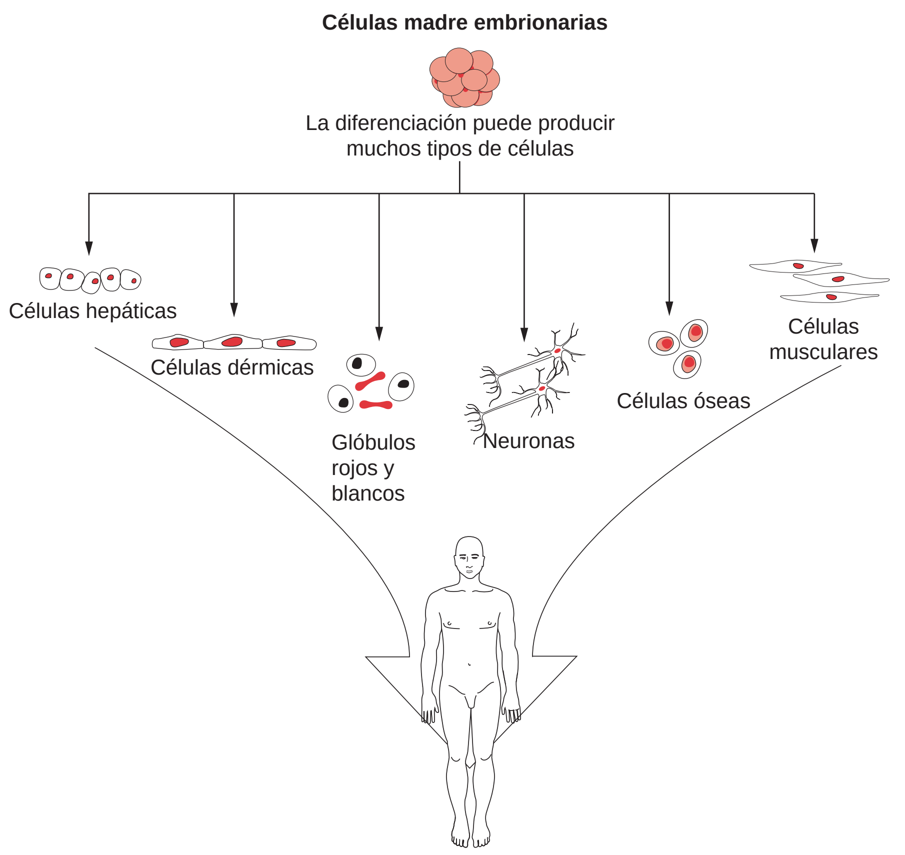


Figura 1.14 Las células madre embrionarias pueden evolucionar a muchos tipos de células diferenciadas Las células madre embrionarias derivan de embriones o fetos en fase de gestación temprana. Este tipo de células son células inmaduras que pueden estimularse para que se desarrollen (diferencien) en múltiples tipos de células. Muchos científicos están fascinados por las potenciales aplicaciones médicas de las células madre, como el trasplante para reemplazar tejidos dañados o defectuosos, pero su uso es muy polémico.

1.4 El capital humano de la biotecnología

¿Cómo se preparará el mundo para el siglo de la biotecnología? Los recientes logros del Proyecto del Genoma Humano han creado un nuevo abanico de oportunidades para las empresas biotecnológicas y los individuos que buscan empleo en la esta industria (Figura 1.15). Un reto será la formación de las personas para que puedan descifrar montañas de información genética nueva y redactar conclusiones relevantes sobre las complejas relaciones entre genes, salud y enfermedad.



Figura 1.15 La industria biotecnológica supone una interesante oportunidad para muchos tipos de científicos Desde biólogos y químicos, hasta ingenieros, comerciales y especialistas en tecnología de la información, la industria de la biotecnología ofrece una amplia variedad de oportunidades laborales. Aquí aparece una estudiante de último curso trabajando en su proyecto de investigación. La adquisición de experiencia en investigación es una forma excelente de prepararse para una carrera en biotecnología.

Los científicos en biotecnología tendrán que sentirse cómodos analizando información de muchas fuentes, como datos de la secuencia de DNA, datos de la expresión génica de *microarrays* y SNP, configurar los datos en el ordenador a partir de análisis de la estructura de DNA y proteínas, y datos químicos empleados para estudiar las estructuras moleculares. Por último, las empresas de biotecnología buscan gente docta en el análisis de datos complejos y que comparta su experiencia con otros en entornos de trabajo en equipo enfocados a la resolución de problemas. El capital humano de la biotecnología depende de contribuciones importantes de gente con talento en muchas disciplinas científicas.

El negocio de la biotecnología

En 1976 se fundó Genentech Inc., una pequeña empresa cercana a San Francisco (California). Genentech se conoce generalmente como la primera empresa de biotecnología, y su éxito dio paso al nacimiento de esta fascinante industria. Hoy, la biotecnología es una industria global con cientos de productos en el mercado que generan más de 44 mil millones de euros en todo el mundo, incluyendo 28 mil millones en ventas de fármacos biológicos en Estados Unidos (como enzimas, anticuerpos, vacunas y hormonas). Muchas de las empresas biotecnológicas están trabajando en la cura del cáncer, en parte porque sólo en Estados Unidos casi el 40 por ciento de la población será diagnosticada de cáncer a lo largo de su vida. El cáncer es la segunda causa de muerte en Estados Unidos después de enfermedades cardiacas. En la actualidad están en desarrollo 350 productos biotecnológicos cuyo objetivo es el cáncer, la diabetes, afecciones cardiacas, Alzheimer, Parkinson, artritis, sida y muchas otras enfermedades.

Norteamérica, Europa y Japón acaparan el 95 por ciento de las empresas biotecnológicas, pero las firmas biotecnológicas se encuentran por todo el mundo, con más de 4.900 empresas en 54 países. Hasta países sin tradición en investigación y desarrollo están virando hacia la biotecnología para las innovaciones punteras. Por ejemplo, la biotecnología es una industria de rápido desarrollo en India y en China. Todavía muchas de las empresas líderes en biotecnología se localizan en Estados Unidos (véase Figura 1.16), donde actualmente existen unas 1.500 empresas, muchas de las cuales están en estrecha relación con colaboradores y universidades o emplazadas cerca de las principales universidades en las que se generan las ideas científicas básicas para aplicaciones biotecnológicas. Para más información sobre centros biotecnológicos norteamericanos visita la URL de la *Biotechnology Industry Organization* (www.bio.org). Estos centros son excelentes fuentes de información sobre la profesión del biotecnólogo en Estados Unidos. En esa página web puedes encontrar empresas de biotecnología y saber más sobre sus productos.

Organización de una empresa biotecnológica

Ahora mismo te estarás preguntando cuál es la diferencia entre una empresa biotecnológica y una compañía farmacéutica. La mayoría de nosotros conocemos empresas farmacéuticas como Merck, Johnson & Johnson o Pfizer, porque puede que hayamos usado uno o más de sus productos, pero la mayoría de la gente no es capaz de citar una empresa biotecnológica (Tabla 1.3) o explicar en qué se diferencian una de estas empresas de una farmacéutica. Generalmente, las empresas farmacéuticas están implicadas en el desarrollo de fármacos sintetizando o purificando químicamente compuestos usados para hacer fármacos como la aspirina, los antiácidos y las medicinas para el resfriado. Las compañías farmacéuticas no suelen usar organismos vivos para cultivar o producir un producto (como una proteína recombinante), al contrario que en las empresas biotecnológicas. Pero hoy en día las diferencias entre ambas son más difusas, ya que muchas grandes empresas farmacéuticas suelen estar implicadas en la investigación biotecnológica y el desarrollo de productos tanto directa como indirectamente, formando parte de compañías biotecnológicas. Recuerda también que la biotecnología supone mucho más que el desarro-

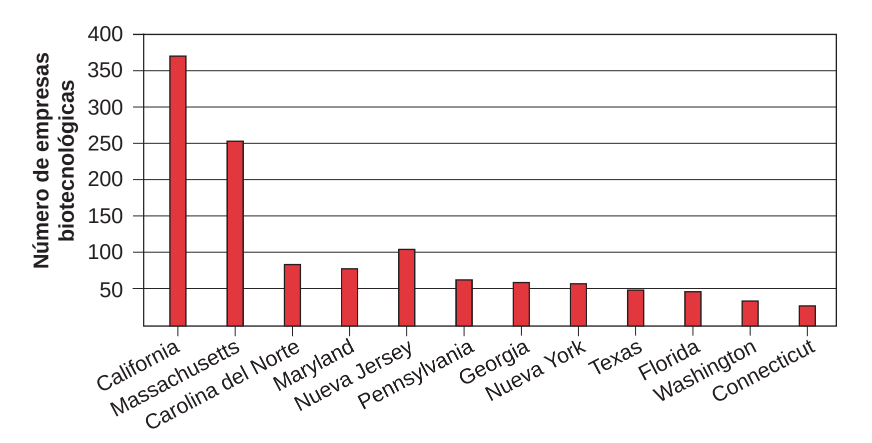


Figura 1.16 Distribución de empresas biotecnológicas estadounidenses A lo largo de Estados Unidos encontramos empresas biotecnológicas públicas y privadas.

Tabla 1.3 LAS CINCO EMPRESAS BIOTECNOLÓGICAS IMPORTANTES Y LAS CINCO FARMACOLÓGICAS (POR INGRESOS)

Empresas biotecnológicas	Ingresos (millones de euros)
Amgen	8.475
Genentech	4.676
Genzyme	1.830
Biogen Idec	1.675
Chiron	1.354
Empresas farmacéuticas	
Pfizer	36.167
Johnson & Johnson	35.740
Merck & Co.	15.523
Bristol-Myers Squibb	13.552
Eli Lilly & Co.	10.331

Adaptado de: Ernst & Young, *Beyond Borders. Global Biotechnology Report 2006* (www.ey.com/beyondborders). Ingresos basados en los resultados preliminares remitidos por las empresas.

llo de fármacos. Hay muchas compañías de distintos tamaños dedicadas a trabajos sobre diversas áreas específicas de la biotecnología.

Las empresas de biotecnología varían en tamaño, desde pequeñas empresas de menos de 50 empleados hasta las grandes con más de 300 empleados. Históricamente muchas de ellas comienzan como **empresas de puesta en marcha** formadas por un pequeño grupo de científicos que creen que pueden hacer un producto prometedor (como la proteína recombinante para tratar enfermedades). El equipo suele buscar entonces inversores para obtener fondos de forma que puedan comprar o alquilar instalaciones de laboratorios, herramientas y suministros, y continuar su labor de investigación para hacer su producto. Si consiguen sacar un producto al mercado (proceso que tarda unos diez años de media), muchas de estas empresas son adquiridas por compañías grandes bien establecidas.

Existen similitudes entre la organización de las empresas farmacéuticas y biotecnológicas (Figura 1.17). Analizaremos muchos aspectos de esta organización en la siguiente sección, en la que describimos diferentes oportunidades laborales en cada sector de una empresa biotecnológica.

Trabajos en biotecnología

En Estados Unidos, la industria de la biotecnología da trabajo a más de 200.000 personas. La biotecnología ofrece multitud de opciones laborales, como técnicos de laboratorio implicados en la investigación básica y desarrollo, programadores informáticos, directores de laboratorio y personal de *marketing* y ventas. Todos ellos son esenciales para la industria de la biotecnología. En esta sección, consideramos algunas de las categorías laborales en la biotecnología.

Investigación y desarrollo (I + D)

El desarrollo de un producto nuevo es un proceso largo y caro. Los **trabajadores de I + D** están directamente implicados en el proceso de desarrollo de ideas y dirección de experimentos para determinar si una idea prometedora (por ejemplo, la utilización de una proteína recombinante a partir de un gen recién clonado para tratar una enfermedad) realmente puede llevar al desarrollo de un producto. Requiere una gran repetición de ensayo y error. Tanto en las grandes como en las pequeñas empresas existe un departamento de I + D. De media, las empresas biotecnológicas invierten al menos cuatro veces más en I + D que cualquier otra industria tecnológica. Para algunas empresas el presupuesto de I + D supone el 50 por ciento del presupuesto total. La I + D es la espina dorsal de la mayoría de las empresas, ya que sin nuevos descubrimientos las empresas no pueden desarrollar nuevos productos. La mayoría de puestos en I + D requieren estudios superiores en química, biología o bioquímica (Figura 1.18). Los **técnicos de laboratorio** son responsables de tareas como la limpieza y mantenimiento del equipo que usan los científicos y estar pendientes de que no falten los suministros necesarios. Los **ayudantes de investigación** llevan a cabo experimentos bajo la supervisión directa de reconocidos científicos con experiencia. Estos puestos exigen estudios superiores o postgrados en biología o química. Los ayudantes de investigación están considerados como los científicos «de base», y llevan a cabo experimentos bajo la dirección de uno o más científicos de más antigüedad. Los asistentes trabajan en equipos realizando el diseño, la ejecución y la interpretación de los experimentos y los resultados; también revisan la bibliografía científica y preparan informes técnicos, protocolos de laboratorio y resúmenes de datos.

Los **científicos principales** o de mayor antigüedad suelen tener un doctorado y una experiencia considerable en la investigación y destrezas de gestión para dirigir a otros científicos. Estas personas están consideradas como los líderes científicos de una empresa. Las responsabilidades incluyen la planificación y ejecución de las investigaciones prioritarias de la compañía, actuando como portavoces de las investigaciones y desarrollos en conferencias, participando en la solicitud de patentes, escribiendo informes del progreso, pidiendo subvenciones y aconsejando a los gestores financieros de la empresa. Los títulos de los puestos y las descripciones pueden variar de una empresa a otra, sin embargo si estás interesado en hacer nuevos descubrimientos científicos, los departamentos de I + D serán tu mejor opción.

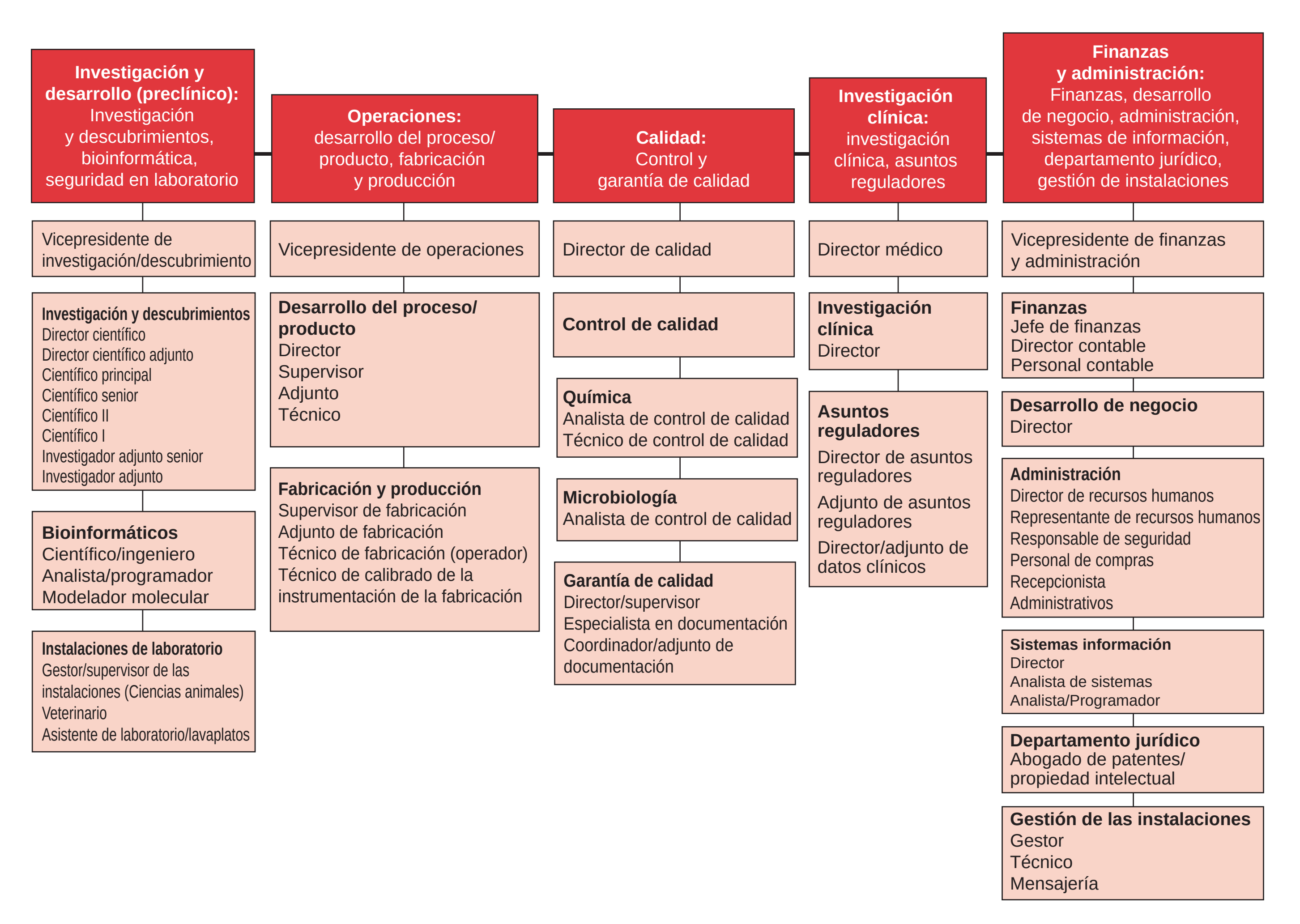


Figura 1.17 Estructura de la organización de una empresa biotecnológica de medio tamaño Las empresas biotecnológicas varían en tamaño, pero la mayoría de ellas tienen estructurada su organización de forma similar a la que se especifica en esta figura. Fíjate en el rango de diferentes aspectos de la compañía desde I + D hasta ventas, *marketing* y asuntos jurídicos.

La rápida expansión de la bioinformática, el uso de ordenadores para analizar y almacenar datos de DNA y proteínas, requiere una comprensión de la programación computacional, la estadística y la biología. Hasta hace poco, muchos expertos de esta materia eran informáticos que habían aprendido por sí mismos biología molecular, o biólogos moleculares que habían aprendido informática, análisis de bases de datos y matemáticas. Hoy en día, se fomenta que la gente con interés por la informática estudie biotecnología y viceversa. Además, los programas específicos de bioinformática están empezando a aparecer en las principales universidades, facultades, escuelas técnicas y en las redes laborales, para preparar a futuros **bioinformáticos**.

Muchos piensan que la cantidad masiva de datos procedente del Proyecto del Genoma Humano dará lugar a una fusión de la biotecnología y la tecnología de la información. Los bioinformáticos son necesarios para analizar, organizar y compartir la información de la secuencia de DNA y proteínas. Sólo el genoma humano contiene más de tres mil millones de pares de bases, y cada día se añaden bases de datos de todo el mundo, con datos de cientos de miles de bases de secuencias de otras especies. Se necesitan sofisticados programas para analizar esta información. ¿Cómo harán las empresas biotecnológicas para no ahogarse en un mar de datos en constante crecimiento que inunda la biología y la química? Los sistemas de minería de datos y de almacenamiento de datos sólo están empezando a aparecer en el mercado de la bioinformática. Para ponernos en antecedentes, una base de datos financiera de un gran banco puede tener 100 columnas que representen diferentes clientes, con un millón de filas de datos. Por el contrario, una base de datos farmacéutica puede albergar 30.000 columnas para genes y sólo unas 40 filas de pacientes. Las herramientas informáticas de modelado, como las redes neuronales y los árboles de decisión, también tienen un uso extenso en la bioinformática para identificar patrones entre marcado-

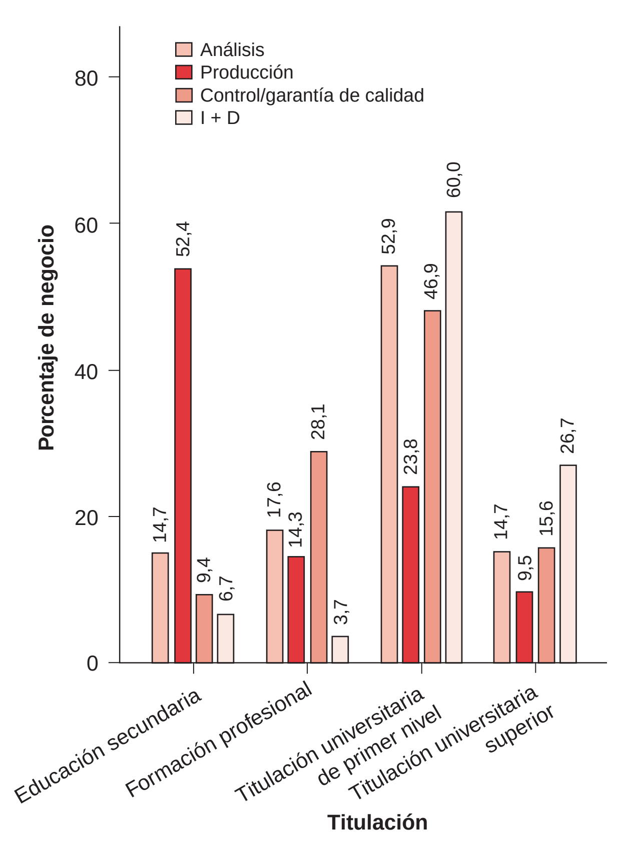


Figura 1.18 Nivel mínimo de educación necesario para puestos básicos técnicos Se realizó un estudio de los requisitos académicos para puestos básicos en 69 empresas biotecnológicas en las tres provincias de la costa central de California. Los resultados son comparables con otras zonas de Estados Unidos e indican que es necesario un mayor nivel de formación para I + D que para otras áreas.

res de SNP y el estado de la enfermedad. Si te interesa aunar el conocimiento de la biología con destrezas informáticas, la bioinformática puede ser una buena opción.

Operaciones, fabricación biológica y producción

Operaciones, fabricación biológica y *producción* son términos que describen la división de una empresa biotecnológica que supervisa detalles específicos del desarrollo de un producto como el equipamiento y los procesos de laboratorio involucrados en la producción de un producto, lo que a menudo incluye procesos jerarquizados en los que deben cultivarse células **a gran escala** para hacer un producto. Esto no es una tarea sencilla. Como analogía simple, la jerarquización es la diferencia entre cocinar para ti solo en contraposición a preparar un menú completo de cena de Navidad para 50 personas. La fabricación biológica y los centros de producción mantienen y controlan el equipamiento de gran escala y volumen utilizado durante la producción y aseguran que la empresa esté siguiendo procedimientos correctos y manteniendo unos registros apropiados para el producto. Los detalles del trabajo en la fabricación biológica son específicos del producto determinado que una empresa esté fabricando. Los puestos iniciales incluyen personal de compras, ayudantes y miembros de fabricación. Los puestos de supervisión y gestión suelen requerir estudios superiores de biología o química y varios años de experiencia en la fabricación de productos o del tipo concreto de producto al que esté dedicada la empresa. La producción y fabricación también requiere la colaboración de muchos tipos de ingenieros: ingenieros químicos, eléctricos, medioambientales o industriales. Los puestos de ingenieros suelen exigir estudios superiores de ingeniería o postgrados en biología o algún área de ingeniería.

TÚ DECIDES

¿Medicamentos biotecnológicos genéricos?

A medida que ha ido madurando la industria de la biotecnología, muchos de los primeros productos biotecnológicos cuya patente se ha aprobado perderán su protección de patente en los próximos años. Las patentes de unos 20 productos con ventas anuales de más de 17 mil millones de euros expiraron en 2006. Las patentes están concebidas para proveer un derecho de monopolio para el desarrollador de una invención, y en Estados Unidos las patentes pueden durar hasta 20 años. Existe una polémica en la industria sobre si muchos de estos productos recibirán la aprobación para convertirse en **medicamentos genéricos.** Ya sabrás que los medicamentos genéricos son copias de productos de marca que suelen tener la misma efectividad, seguridad y calidad que el original pero se producen a un coste menor para el consumidor que el de marca. Los genéricos son más baratos porque a menudo tienen la aprobación de uso sin tener que pasar por los mismos costosos estudios de seguridad y efectos que necesitan los medicamentos de marca.

Muchas empresas biotecnológicas están luchando contra la producción de medicamentos biotecnológicos genéricos, reclamando que el coste más elevado de hacer un producto biotecnológico como los anticuerpos en comparación con un medicamento farmacéutico les otorga el derecho de fabricar medicamentos de marca y sacar beneficio sin competir contra los genéricos. Algunos también dudan de si se podría producir un genérico a un coste realmente reducido, ya que normalmente sigue siendo más caro elaborar un producto biotecnológico que uno farmacéutico.

En países en vías de desarrollo pueden surgir cuestiones similares en cuanto al coste de los medicamentos, dado que mucha gente que los necesita no puede permitírselos, aunque en este caso muchas empresas venden medicamentos en países desarrollados a un precio más alto para destinar algunos de estos beneficios a facilitar medicamentos a un coste bajo o de forma gratuita a las naciones en vías de desarrollo. ¿Debería forzarse a las empresas biotecnológicas a producir medicamentos genéricos? Tú decides.

Garantía y control de calidad

Como verás en el Capítulo 12, la mayoría de los productos procedentes de la biotecnología están muy controlados por agencias federales como la FDA *(Food and Drug Administration)*, la EPA *(Environmental Protection Agency)* y el USDA *(U.S. Department of Agriculture)*. Estas agencias federales exigen que la fabricación siga los métodos exactos aprobados por los oficiales reguladores. Como ya hemos apuntado, el objetivo global de la garantía de calidad es garantizar la calidad final de todos los productos. Los esfuerzos por el control de la calidad intentan asegurar que los productos cumplen las estrictas normativas obligatorias. Además de garantizar que los componentes del proceso de fabricación del producto cumplen las especificaciones debidas, los trabajadores de estos departamentos también son responsables del control de los equipos, instalaciones y personal, manteniendo una documentación correcta, probando muestras del producto, y recibiendo las consultas y quejas de los consumidores, entre otras tareas. Los puestos iniciales en control y garantía de calidad son técnico de convalidación, empleado de documentación e inspector de control de calidad. Estos puestos requieren al menos estudios superiores en biología, mientras que los puestos de supervisión y directivos requieren más estudios.

Los **especialistas en las relaciones con el consumidor** también suelen trabajar en el departamento de garantía de calidad de una empresa. Una de las funciones de las relaciones con el cliente es investigar las quejas de los consumidores sobre un problema con un producto y hacer un seguimiento con el consumidor para facilitar una respuesta o solución apropiada para el problema.

Aspectos normativos e investigación clínica

Como veremos en el Capítulo 12, en Estados Unidos desarrollar un producto farmacéutico es un proceso largo y caro que consiste en probar el nuevo medicamento en sujetos voluntarios para recibir en última instancia la aprobación de la FDA. El proceso clínico de ensayos, junto con muchas otras áreas clínicas y no clínicas de la biotecnología, está regulado por un gran número de administraciones. Por tanto, cada empresa biotecnológica tiene empleados que controlan el cumplimiento de las regulaciones para asegurar procesos normativos correctos. Las empresas biotecnológicas implicadas en el desarrollo de fármacos para personas suelen tener grandes divisiones de investigación clínica con personal científico y no científico para dirigir y supervisar los ensayos clínicos.

Divisiones legales, de ventas, finanzas y *marketing*

La venta y el *marketing* de la gama de productos biotecnológicos, desde instrumentos médicos a medicamentos, es un área clave de la biotecnología. La mayoría de la gente que trabaja en el *marketing* y las ventas de la biotecnología tienen estudios superiores en ciencias y están familiarizados con los procesos científicos de la biotecnología, quizá combinado con cursos de negocios o estudios de *marketing*.

Los **comerciales** trabajan con médicos, hospitales e instituciones sanitarias para promocionar los productos de una empresa. Los **especialistas en *marketing*** idean campañas de publicidad y material promocional para fijar como objetivo las necesidades de los clientes respecto a los productos que vende la empresa. Los representantes y especialistas suelen asistir a ferias y conferencias. Es importante tener un buen conocimiento en ciencias, ya que la capacidad de responder las preguntas del usuario final es una destreza fundamental en la venta y el *marketing*. La **división financiera** de una empresa biotecnológica suele estar a cargo de vicepresidentes o directores financieros que supervisan las finanzas de las empresas y también están implicados a menudo en la obtención de fondos procedentes de socios o de capitalistas arriesgados que buscan invertir en empresas tecnológicas. Los **especialistas legales** en estas empresas suelen trabajar sobre temas legales relacionados con el desarrollo del producto y el *marketing*, como los derechos de autor, del nombre y la obtención de patentes. La plantilla de este campo también se encarga de las circunstancias que pueden surgir si hay problemas con un producto o litigios con el usuario de un producto.

Salarios en biotecnología

La gente que trabaja en la industria de la biotecnología está haciendo descubrimientos revolucionarios contra enfermedades, nuevos hallazgos que mejoran la producción alimenticia, limpian el planeta y hacen la fabricación más eficaz y beneficiosa. Aunque el uso de organismos vivos para mejorar la vida es una práctica antigua, la industria de la biotecnología sólo lleva presente unos 25 años. Como industria emergente, la biotecnología ofrece salarios competitivos y beneficios, y los empleados de casi todos los niveles refieren una satisfacción laboral alta.

Los salarios de científicos que trabajan en el sector comercial suelen ser más altos que los de los científicos dedicados a la docencia (de escuelas y universidades). Los científicos que trabajan en la industria de la biotecnología están entre los mejores pagados de las ciencias profesionales. En 2006, sólo en California, la industria biotecnológica generó unos 14 mil millones de euros en rentas personales y salariales. En el mismo año, las cinco empresas biotecnológicas principales del mundo gastaron una media de 65.800 euros en cada empleado.

Según una encuesta llevada a cabo recientemente por la división Radford de AON Consulting, entre más de 400 empresas biotecnológicas, los doctores en biología, química y biología molecular sin experiencia profesional partian con una media salarial anual de 39.290 euros, los científicos con experiencia ganaban más de 85.000 euros al año. Para las personas con un máster en los mismos campos, el salario medio era de 28.200 euros anuales,

con un rango de entre 42.000 y 50.000 para los ayudantes de investigación y 23.000 para los que sólo tenían estudios superiores, y un rango de entre 36.000 y 44.000 para los ayudantes de investigación. Para actualizaciones de estos datos puedes visitar las páginas web de Radford Biotechnology Compensation Report, Comission of Profesionals in Science and Technology, y U.S. Office of Personnel Management. Las páginas web de los informes salariales se enumeran en «Mantente al día: enlaces a las páginas web complementarias».

Según una encuesta nacional, el 56 por ciento de los estudiantes universitarios que entran en programas de formación en biotecnología tienen pocos antecedentes científicos o ninguno. Si tienes la base adecuada en biología y buenas habilidades de laboratorio, hay muchos puestos buenos en diferentes niveles, pero cada vez más la formación a nivel universitario o de escuelas técnicas se está convirtiendo en un requisito para trabajar en biotecnología.

Tendencias en alza en la industria biotecnológica

Las perspectivas profesionales en biotecnología son excelentes. La industria ha triplicado con creces su tamaño desde 1992 y los ingresos de las empresas en todo el mundo se han incrementado aproximadamente de 6 mil millones de euros en 1992 a 20 mil millones en 2001. Como resultado de esta prosperidad, entre 1995 y 1999, el período más amplio para el que hay datos de este tipo, la industria biotecnológica estadounidense aumentó su capital humano en un 48,5 por ciento. Se espera que esta tendencia continúe. Las firmas biotecnológicas y los laboratorios de investigación han descubierto que es mejor nutrirse de trabajadores a nivel técnico cualificado con gente que tiene formación especializada, que dedicarse a la práctica tradicional de intentar encontrar gente con másteres o doctorados. Muchos encargados de recursos humanos y de empresas de contratación señalan que hay un tremendo incremento del número de puestos de trabajo en bioinformática, proteómica y genética.

También hay un amplio mercado laboral para científicos en el descubrimiento de fármacos. Las grandes empresas biotecnológicas, de cualquier parte, indican que están creciendo rápido y ven que hay demanda de casi cualquier elección profesional. En concreto, los trabajos más cotizados suelen ser los que requieren trabajo en equipo tanto dentro como fuera de la empresa. La cooperación se ha vuelto el marco de trabajo del desarrollo farmacéutico, y las destrezas en este ámbito son esenciales para cualquier miembro de esta industria.



PERFIL PROFESIONAL

Encontrar un trabajo en biotecnología que te resulte interesante

A lo largo de todo el libro usaremos este elemento de Perfil profesional para destacar opciones profesionales, incluyendo requisitos académicos, descripción de los puestos, salarios y otra información. Hay muchas páginas web que ofrecen información sobre profesiones en biotecnología:

- Biotecnologica.com (www.biotecnologica.com <http://www.biotecnologica.com>). Encontrarás algunas ofertas de empleo en empresas biotecnológicas.
- Biologia.org (www.biologia.org <http://www.biologia.org>). El portal de Biología y Ciencias de la Salud te da acceso a varias webs con contenidos y oportunidades en biotecnología.
- Biotech Career Center (www.biotechcareercenter.com). Un buen sitio para material profesional, enlaces a recursos y mucha información sobre más de 600 empresas biotecnológicas.
- Biotechnology Industry Organization (www.bio.org). Puedes acceder a uno de los sitios de empresas biotecnológicas.
- Access Excellence Careers in Biotechnology (www.accessexcellence.org/RC/CC/). Descripción de los puestos y excelentes enlaces a fuentes de profesiones en biotecnología.
- Bio-Link (www.bio-link.org). Puedes encontrar recursos útiles de trabajadores en biotecnología. Tiene varias secciones de información profesional, descripción de los puestos y requisitos académicos, sitios de bolsa de trabajo, y listados de empresas biotecnológicas, entre otros muchos recursos.
- California State University Program for Education and Research in Biotechnology (CSUPERB) (www.csuchico.edu/csuperb/). Un recurso excepcional para material educativo y profesional de biotecnología. En concreto, visita el sitio «carrer site» y «job links».
- Massachusetts Biotechnology Industry Organization (www.massbio.org/). Visita el enlace «careers» para consultar uno de los listados más exhaustivos de descripción de puestos en la industria de la biotecnología, desde vicepresidente de investigación y desarrollo hasta puestos de limpieza.

Busca en estos sitios un trabajo que te llame la atención. Después reescribe tu currículo para que encaje en la descripción de ese trabajo, o identifica los cursos o experiencia que necesitarías para solicitar con éxito ese puesto. Imprime los resultados y guárdatelos para futuras consultas.

Otra tendencia que ha alcanzado suma importancia es la necesidad de personal polivalente. Por ejemplo, una persona con la carrera de biología, algunos conocimientos en tecnología de la información y formación en matemáticas tendrá potencialmente más ventajas en el mercado laboral, sobre todo en compañías que busquen gente con combinaciones de destrezas únicas.

Además, las perspectivas de trabajo en biotecnología son apasionantes. Las oportunidades son excelentes para individuos con una formación científica sólida y buenas habilidades de comunicación, tanto orales como escritas, en combinación con una gran capacidad de trabajo en equipo.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. Cita dos ejemplos de aplicaciones históricas y actuales de la biotecnología.
2. Escoge un ejemplo de aplicación biotecnológica y describe cómo afecta a tu vida cotidiana.
3. ¿Qué área de la biotecnología implica el uso de organismos vivos para limpiar el medio ambiente?
4. Describe cómo influirá la farmacogenómica en el tratamiento de enfermedades humanas.
5. Diferencia control de calidad y garantía de calidad, y explica por qué ambas son importantes para las empresas de biotecnología.
6. Accede a la biblioteca de National Center for Biological Information (www.ncbinlm.nih,org), y busca información nueva sobre las células madre derivadas de adultos. Este recurso de libre acceso te facilitará recopilaciones y títulos de artículos completos que pueden conseguirse en otras bibliotecas.
7. Consulta la sección «*About Biotech*» de la página web de Access Excellence (www.accessexcellence.org/AB). Esta sección muestra una visión de conjunto de las aplicaciones históricas y actuales de la biotecnología. Echa un vistazo a los diferentes temas que se presentan en esa página. Se describen muchos aspectos interesantes y ejemplos de la biotecnología en términos prácticos para el estudiante. Busca un tema de biotecnología que te interese, imprime la información que te parezca útil y compártela con un familiar o amigo que no esté familiarizado con la biotecnología.
8. Interaccionar con otros en un grupo establecido es una habilidad esencial en la mayoría de los campos de la ciencia. Como has aprendido en este capítulo, la biotecnología implica la colaboración de grupos de científicos, matemáticos y expertos en informática, con el fin de solucionar un problema o llegar a un objetivo común. Hablar de biología con otra persona es divertido y beneficioso para todos los que trabajan sobre el mismo problema dentro de una empresa, y trabajar con otros estudiantes es una forma excelente de aprender y disfrutar de tus estudios de biotecnología. Enseñar a otra persona es una excelente forma de comprobar tus conocimientos. Analiza tu capacidad de trabajar en equipo formando un grupo de estudio para el siguiente examen. Asigna un jefe de grupo que sea responsable de organizar encuentros y mantener el grupo de estudio centrado en ayudar a que todos aprendan. Asegúrate de que todo el mundo tiene un tema para presentarle al grupo y de que todos ofrecéis críticas constructivas a sus sugerencias. Si no podéis reuniros en una sala, compartid vuestras ideas por correo electrónico o pídele a tu profesor que cree un grupo en la red para que podáis comunicaros por ese medio.
9. La National Library of Medicine es una base de datos mundial de publicaciones de investigación en biología en prensa científica, y se puede acceder a ella de forma gratuita en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?DB=pubmed. Accede a PubMed, realiza una búsqueda de un tema de biotecnología sobre el que pueda resultarte interesante encontrar informaciones recientes de las últimas investigaciones y desarrollos de la biotecnología.
10. La clonación de organismos ha llevado a la preocupación de que podrían clonarse seres humanos. Incluso un grupo ha reconocido haberlo hecho. Haz una búsqueda en Google con los términos *Raelians* y *cloning*. En el momento en que se publicó este libro no se había probado como válido ningún testimonio de haber clonado humanos y la mayoría de los científicos están rotundamente en contra de la clonación humana. ¿Tú qué piensas? ¿Deberían clonarse seres humanos?

Bibliografía y lecturas complementarias

Aggarwal, S. (2007). What's Fueling the Biotech Engine? *Nature Biotech*., 25: 1097-1104.

Beyond Borders: The Global Biotechnology Report 2006. Ernst & Young, 2006. www.ey.com/beyond borders.

Flanagan, N. (2005). Bioresearch Highlights: Significance of SNPs. *GEN,* 25:1.

Lizeswski, K. (2006). Metabolomics Plays Crucial Discovery Role. *GEN,* 26:1.

Palladino, M. A. (2006). *Understanding The Human Genome Project,* 2e. San Francisco: Benjamin Cummings.

Robbins-Roth, C. (2001). *From Alchemy to IPO: The Business of Biotechnology*. Cambridge, MA: Perseus.

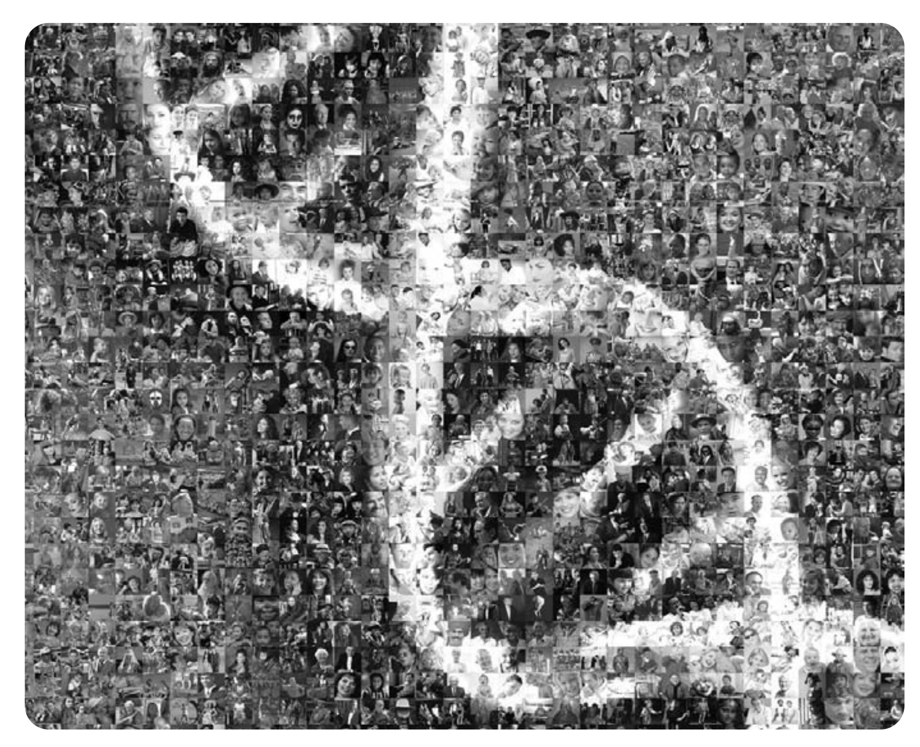
En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo **2**

Introducción a los genes y genomas

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Comparar y contrastar la estructura de células procariotas y células eucariotas.
- Conocer los importantes experimentos que llevaron a los científicos para determinar que el DNA es el material genético que se hereda en los organismos vivos.
- Describir la estructura de los nucleótido y explicar cómo se unen para formar una molécula en doble hélice de DNA.
- Describir el proceso de replicación del DNA y explicar el papel de las diferentes enzimas de este proceso.
- Entender lo que son los genomas y comprender por qué los biólogos están interesados en estudiar los genomas.
- Describir el proceso de transcripción y comprender la importancia del procesamiento del mRNA para producir una molécula de mRNA maduro.
- Describir el proceso de traducción, incluido el papel del mRNA, tRNA y rRNA.
- Definir la expresión génica y entender por qué la regulación de la expresión génica es importante.
- Analizar el papel de los operones en la regulación de la expresión génica en bacterias.
- Nombrar diferentes tipos de mutaciones y dar ejemplos de las posibles consecuencias de las mismas.



Los genes se encuentran codificados dentro del DNA y proporcionan las instrucciones para el control de todas las actividades celulares. Los genes influyen en nuestro comportamiento, determinan rasgos de nuestra apariencia física como la piel, el cabello y el color de los ojos, y afectan a nuestra susceptibilidad para padecer enfermedades.

La comprensión de la estructura del DNA como la molécula de la vida –el material genético heredado– es fundamental para el estudio de la biotecnología. Más adelante, en el Capítulo 3, veremos cómo las extraordinarias técnicas de la biología molecular permiten a los biólogos clonar DNA y hacer ingeniería genética, manipulaciones que son esenciales para muchas aplicaciones en biotecnología. En este capítulo se revisa la estructura del DNA y la replicación, se discute cómo los genes codifican para las proteínas, y se proporciona una introducción a las causas y las consecuencias de las mutaciones.

Tabla 2.1 CÉLULAS PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS

	Células procariotas	Células eucariotas
Tipos de células	Bacterias verdaderas (eubacterias), Arqueobacterias	Protistas, hongos, células vegetales y animales
Tamaño	100 nm-10 μm	10-100 μm
Estructura	Sin núcleo; DNA localizado en el citoplasma. Carece de orgánulos	DNA rodeado por membrana nuclear. Muchos orgánulos

2.1 Resumen de la estructura de la célula

Las células son las unidades estructurales y funcionales de todas las formas de vida. Organismos como las bacterias constan de una sola célula, mientras que los seres humanos tienen aproximadamente 75 trillones, que incluyen más de 200 tipos diferentes que cambian en aspecto y función. Las células varían mucho en tamaño y complejidad, desde las pequeñas células bacterianas a las neuronas humanas que pueden estirarse más de un metro desde la columna vertebral hasta los músculos de los dedos. Pero en realidad, todas las células de un organismo comparten un componente común, la información genética en forma de **ácido desoxirribonucleico (DNA).** Los genes contenidos en el DNA controlan numerosas actividades en la célula dirigiendo la síntesis de proteínas. Los genes influyen en nuestro comportamiento, determinan nuestra apariencia física como la piel, el cabello y el color de ojos; y afectan nuestra susceptibilidad para padecer enfermedades genéticas. Antes de empezar el estudio de los genes y genomas, revisaremos los aspectos básicos de la estructura y función celular y compararemos brevemente los diferentes tipos de células.

Las células procariotas

Las células son entidades complejas con estructuras especializadas que determinan la función celular. En general, cualquier célula puede ser dividida en **membrana plasmática (celular),** que es una bicapa formada principalmente por lípidos y proteínas que rodean la superficie externa de las células; el **citoplasma,** es el contenido interno de una célula comprendido entre el núcleo y la membrana plasmática; y los **orgánulos** (término que significa «pequeños órganos»), son estructuras celulares que realizan funciones específicas. A lo largo de este libro, no sólo se considera cómo las células vegetales y animales tienen importantes funciones en biotecnología, sino que también se tratan muchas aplicaciones biotecnológicas relativas a bacterias, levaduras y otros microorganismos. Las bacterias son conocidas como **células procariotas** o simplemente procariotas, del griego «antes del núcleo», porque no tienen **núcleo,** orgánulo que contiene DNA en las células animales y vegetales. Los procariotas incluyen bacterias verdaderas (eubacterias), y cianobacterias, un tipo de algas verde-azuladas (Tabla 2.1) y los miembros del dominio Archaea (bacterias antiguas con algunas características eucariotas) sobre las que aprenderás en el Capítulo 5.

Como se muestra en la Figura 2.1, las bacterias tienen una estructura relativamente simple. El límite exterior de una bacteria se define por la membrana plasmática, que está rodeada por una pared celular rígida que protege a la célula. Salvo los ribosomas que se utilizan para la síntesis de proteínas, las bacterias tienen pocos orgánulos.

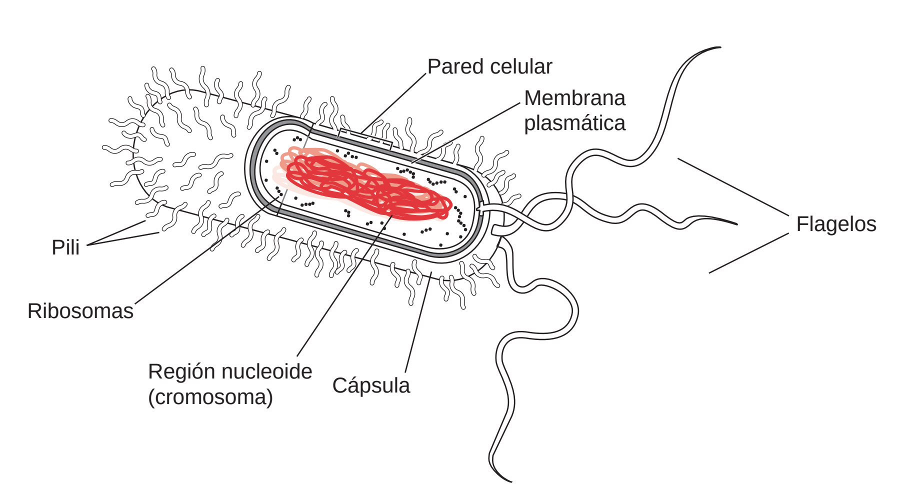


Figura 2.1 Estructura de la célula procariota Las bacterias son procariotas. Aquí se muestra un dibujo de las estructuras contenidas en una típica bacteria en forma de bastón.

El citoplasma contiene el DNA, generalmente en forma de una única molécula circular, que se une a la membrana plasmática y se sitúa en una zona conocida como la región nucleoide de la célula (Figura 2.1). Algunas bacterias también tienen una estructura en forma de cola llamada flagelo que se usa para la locomoción.

Las células eucariotas

Las células vegetales y animales se consideran **células eucariotas,** nombre que proviene de las palabras griegas «núcleo verdadero», debido a que poseen un núcleo rodeado por una membrana y muchos orgánulos. Los eucariotas también incluyen hongos y a los organismos unicelulares llamados protistas, que son la mayoría de las algas. En la Figura 2.2 se muestran esquemas de una célula vegetal y una animal. La membrana plasmática es una barrera formada por una doble capa fluida, altamente dinámica y compleja, compuesta de lípidos, proteínas y carbohidratos. La membrana desempeña un papel esencial en la adhesión celular (unión de las células entre sí), comunicación de una célula con otra, y en la forma celular, y es muy importante para el transporte de moléculas dentro y fuera de la célula. La membrana también desempeña un papel importante como barrera selectivamente permeable, ya que contiene muchas proteínas implicadas en complejos procesos de transporte que controlan las moléculas que pueden entrar y salir de la célula. Por ejemplo, ciertas proteínas como la insulina se liberan de la célula en un proceso llamado secreción; otras moléculas, como la glucosa, pueden ser llevadas al interior de la célula y dentro de las mitocondrias ser convertidas en energía en forma de una molécula llamada **adenosina trifosfato (ATP).** Las membranas también envuelven y son parte importante de muchos orgánulos.

El citoplasma de las células eucariotas está formado por el **citosol,** fluido gelatinoso, rico en nutrientes y muchos orgánulos. El citoplasma de las células procariotas también contiene citosol, pero pocos orgánulos. Piensa en cada orgánulo como el compartimento en el que tienen lugar reacciones químicas y los procesos celulares. Los orgánulos permiten a las células llevar a cabo miles de complejas reacciones diferentes simultáneamente. Cada orgánulo es el responsable de reacciones bioquímicas específicas. Por ejemplo, los lisosomas rompen materiales extraños y orgánulos viejos; orgánulos como el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi sintetizan proteínas, lípidos y carbohidratos (azúcares). Mediante la compartimentalización de las reacciones, las células pueden llevar a cabo multitud de reacciones de manera muy coordinada, simultáneamente y sin interferencias. Asegúrate de familiarizarte con las funciones de los orgánulos representados en la Figura 2.2 y en la Tabla 2.2.

En las células eucariotas, el núcleo contiene el DNA. Este orgánulo es una estructura esférica rodeada por una bicapa, la **envoltura nuclear,** y suele ser la estructura más grande en células animales. Casi 2 metros de DNA se enrollan en el núcleo de cada una de las células humanas, y si el DNA de todas las células humanas se conectara de extremo a fin sería suficiente para ir al sol y volver cerca de 500 veces. Aunque la mayoría del DNA en una célula eucariota se encuentra dentro del núcleo, las mitocondrias y los cloroplastos también contienen pequeñas moléculas de DNA circular.

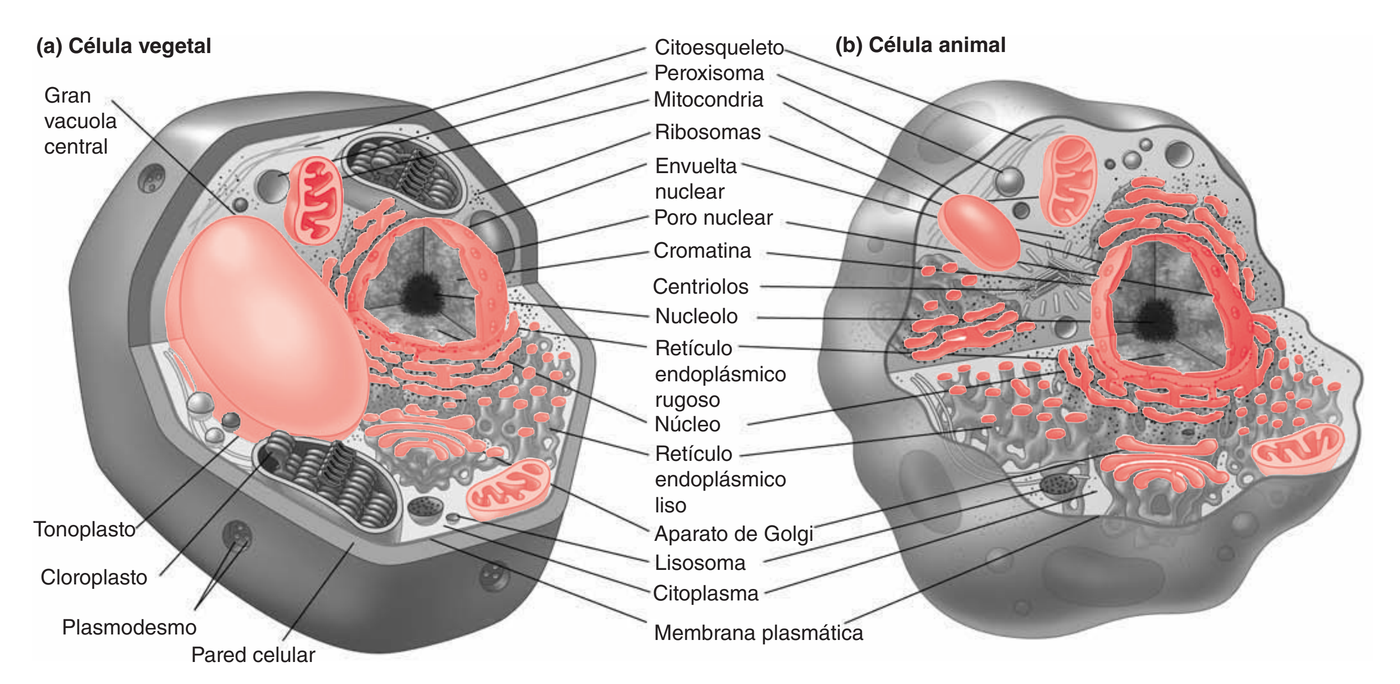


Figura 2.2 Estructura de la célula eucariota Bocetos de las estructuras comunes presentes en las células vegetales (a) y en las células animales (b).

Tabla 2.2 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA CÉLULA EUCARIOTA

Parte de la célula	Estructura	Funciones
Membrana plasmática	Membrana constituida por una doble capa de lípidos (principalmente fosfolípidos, colesterol) en la que hay proteínas embebidas; las proteínas pueden atravesar totalmente la bicapa lipídica o sobresalir por un solo lado; las proteínas que protruyen por la parte externa y algunos lípidos tienen unidos algunos azúcares	Sirve como una barrera celular externa; actúa en el transporte de sustancias dentro o fuera de la célula; mantiene un potencial de reposo que es esencial para el funcionamiento de las células excitables; las proteínas que sobresalen hacia el exterior actúan como receptores (para hormonas, neurotransmisores, etc.) y en el reconocimiento célula-célula
Citoplasma	Es la región celular entre la membrana nuclear y plasmática; está formado por un citosol fluido (que contiene solutos disueltos), inclusiones (nutrientes almacenados, productos de secreción, gránulos con pigmentos) y orgánulos (la maquinaria metabólica del citoplasma)	
Orgánulos citoplásmicos		
• Mitocondrias	Estructuras en forma de varilla, con una doble membrana; la membrana interna posee plegamientos hacia el interior llamados crestas	Lugar de síntesis de ATP, centro energético de la célula
• Ribosomas	Partículas densas constituidas por dos subunidades, cada una de ellas compuesta por RNA ribosomal y proteínas; libres o unidos al retículo endoplásmico rugoso	Lugar de síntesis de proteínas
• Retículo endoplásmico rugoso	Sistema de membranas que delimita una cavidad (cisternas) y se extiende por el citoplasma; salpicado de ribosomas en el exterior	Restos de azucares se unen a las proteínas dentro de las cisternas, las proteínas están contenidas en vesículas para el transporte al aparato de Golgi y a otros sitios; la cara externa sintetiza fosfolípidos y colesterol
• Retículo endoplásmico liso	Sistema membranoso de sacos y túbulos; libre de ribosomas	Sitio de síntesis de lípidos y esteroides, metabolismo lipídico y desintoxicación de drogas
• Aparato de Golgi	Pila de sacos de membrana lisa con vesículas asociadas cerca del núcleo	Empaqueta, modifica y separa las proteínas para su secreción de la célula, inclusión en lisosomas e incorporación a la membrana plasmática
• Lisosomas	Sacos membranosos que contienen hidrolasas (enzimas digestivas)	Sitios de digestión intracelular
• Peroxisomas	Sacos membranosos de enzimas oxidasas	Las enzimas desintoxican una serie de sustancias tóxicas, la enzima más importante, la catalasa, rompe el peróxido de hidrógeno
• Microtúbulos	Estructuras cilíndricas compuestas por tubulina	Soporta la célula y le da forma; participan en los movimientos intracelulares y celulares, forma los centríolos
• Microfilamentos	Finos filamentos formados por la proteína actina	Participa en la contracción muscular y otros tipos de movimiento intracelular; ayudan a formar el citoesqueleto de la célula contráctil
• Filamentos intermedios	Fibras proteicas, varía la composición	Elementos estables del citoesqueleto; resisten las fuerzas mecánicas que actúan sobre la célula
• Centríolos	Cuerpos cilíndricos pares, cada uno compuesto de nueve tripletes de microtúbulos	Organizan una red de microtúbulos durante la mitosis para formar el huso y áster, constituyen la base de los cilios y flagelos
• Cilios	Pequeñas proyecciones de la superficie celular, cada cilio está compuesto de nueve pares de microtúbulos alrededor de un par central	Se mueven al unísono, creando una corriente unidireccional que impulsa sustancias a lo largo de la superficie celular

(Continúa)

Tabla 2.2 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA CÉLULA EUCARIOTA *(CONTINUACIÓN)*

Parte de la célula	Estructura	Funciones
• Flagelos	Como los cilios, pero más largos; el único ejemplo en humanos es la cola de los espermatozoides	Impulsa a la célula
Núcleo	El orgánulo más grande; rodeado por la envuelta nuclear; contiene un nucleoplasma fluido, nucleolos y cromatina	Centro de control de la célula; responsable de la transmisión de la información genética y de las instrucciones para la síntesis de proteínas
• Envuelta nuclear	Estructura de doble membrana, atravesada por poros; la membrana externa continúa con el retículo endoplásmico	Separa el nucleoplasma del citoplasma y regula el paso de sustancias hacia y desde el núcleo
• Nucleolo	Cuerpos esféricos densos (no limitados por membrana) compuestos por RNA ribosomal y proteínas	Lugar de fabricación de las subunidades del ribosoma
• Cromatina	Material granular en forma de hebras compuesto por DNA y proteínas histonas	El DNA contiene los genes
Vacuola central (células vegetales)	Gran compartimento rodeado de membrana	Utilizado para almacenar iones, productos de desecho, pigmentos, compuestos de protección
Cloroplastos (células vegetales)	Orgánulos rodeados de membrana que contienen clorofila, compuestos por estructuras apiladas (grana) de sacos membranosos llamados tilacoides rodeados por un fluido interno (estroma)	Lugar de la fotosíntesis

2.2 La molécula de la vida

Prácticamente en todos los cursos de biología se incluye alguna cuestión acerca del DNA, y el DNA es manipulado de forma rutinaria por los estudiantes en los laboratorios de biología de la universidad y en muchas clases del instituto. Con toda la riqueza de información disponible acerca de muchos aspectos detallados del DNA y de los genes, estudiar biología en el siglo XXI podría dar la impresión de que la estructura del DNA ha sido siempre comprendida. Sin embargo, la estructura de la molécula de la vida y su función como material genético no siempre fueron bien conocidos. Muchos extraordinarios investigadores e increíbles descubrimientos han contribuido a nuestro entendimiento moderno de la estructura y función del DNA. Comenzaremos esta sección con un breve resumen destacando el descubrimiento del DNA como material genético, y luego hablaremos de la estructura del DNA.

Evidencia de que el DNA es el material genético heredado

En 1869, el biólogo suizo Friedrich Miescher identificó una sustancia celular del núcleo a la que denominó «nucleína». Miescher purificó nucleína a partir de glóbulos blancos de la sangre y observó que la nucleína no podía ser degradada por las enzimas para la digestión de proteínas llamadas proteasas. Este descubrimiento sugirió que la nucleína no estaba formada exclusivamente por proteínas. Estudios posteriores determinaron que este material tenía propiedades ácidas, luego la nucleína pasó a llamarse «ácido nucleico». El DNA y el **ácido ribonucleico (RNA)** son los dos tipos principales de **ácidos nucleicos.** Mientras los bioquímicos trabajaban en la identificación de los diferentes componentes de los ácidos nucleicos, la prueba de que el DNA era el material genético que se heredaba fue proporcionada por primera vez por el microbiólogo británico Frederick Griffith en 1928.

Griffith estudiaba dos cepas de la bacteria *Streptococcus pneumoniae,* un microbio que causa la neumonía. En el momento que Griffith realizaba sus estudios, esta cepa se llamaba *Diplococcus pneumoniae.* Griffith trabajaba con una variedad virulenta (causante de enfermedad) llamada cepa suave (células S), junto con una cepa inofensiva llamada cepa bruta (células R). Las células S estaban rodeadas por una cápsula (capa suave) de proteínas y azúcares, mientras que las células R carecían de esta capa. Cuando Griffith inyectaba ratones con células S vivas, los ratones morían, y Griffith encontraba células S vivas en la sangre de los ratones muertos (Figura 2.3). Cuando las células R vivas eran inyectadas en los ratones, los ratones vivían y no mostraban células R vivas en la sangre (Figura 2.3). Estos experimentos sugerían que la capa de proteínas era responsable de la muerte de los ratones. A continuación, para probar esta idea, Griffith mataba las células S mediante calor, lo que destruía las proteínas de la capa proteica. No es sorprendente que los ratones inyectados con células S muertas por calor sobrevivieran

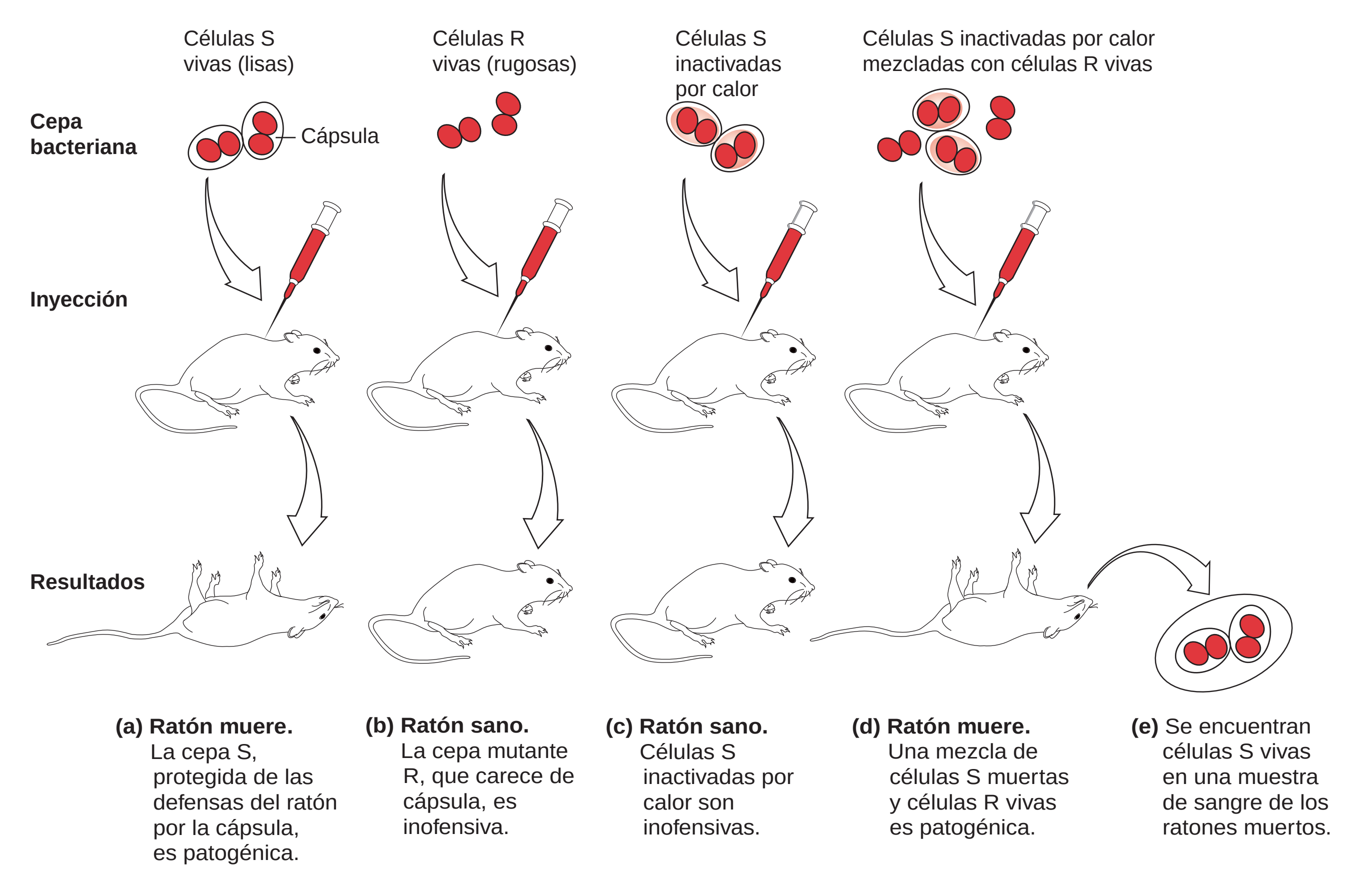


Figura 2.3 Experimentos de transformación de Griffith El experimento de Frederick Griffith con dos cepas de *Streptococcus pneumoniae* presentó pruebas de que el DNA es el material genético de las células. La cepa S de *S. pneumoniae* mata los ratones (a); la cepa R es inofensiva (b). Células S inactivadas por calor son inofensivas (c). Los ratones inyectados con células S inactivadas por calor mezcladas junto con células R vivas murieron (d), y las células S vivas pudieron detectarse en la sangre de los ratones muertos (e). Este resultado es una demostración de la transformación. Células R vivas tomaron el DNA de las células S muertas, transformándose las células R en células S.

sin signos de células S vivas en su sangre. Pero cuando Griffith mezclaba células S muertas por calor con células R vivas en un tubo e inyectaba la mezcla en los ratones, los ratones morían y se encontraban células S vivas en la sangre de los ratones muertos. ¿De dónde provenían las células S vivas?

Este experimento proporcionó evidencias de que el material genético de las células S muertas por calor se había transformado (cambiado) o que las células R se habían convertido en células S. Los experimentos de Griffith demostraron la **transformación,** que es la captación de DNA por las células bacterianas. El tratamiento mediante calor abría algunas de las células S, que liberaban su DNA en el tubo. Células R vivas captaron este DNA de las células S, que transformó las propiedades de las células R convirtiéndose en células virulentas, como las células S. Como verás más tarde, la transformación es una técnica de gran alcance en biología molecular y se utiliza de forma rutinaria para introducir genes en bacterias para la clonación de DNA, producción de proteínas, y otros valiosos objetivos. Aunque Griffith dedujo la hipótesis de que algún factor genético era responsable de la transformación que había observado, en realidad no identificó el DNA como el «factor de transformación». Sin embargo, sus experimentos fueron el instrumento de guía de otros en la búsqueda de este factor.

En 1944, Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty purificaron el DNA a partir de grandes cantidades de *S. pneumoniae* crecido en cultivo líquido. Los experimentos que realizaron proporcionaron la prueba definitiva de que el DNA es el material genético y demostraron que el DNA era el factor de transformación en los experimentos de Griffith. En el ahora famoso experimento de Avery, MacLeod, McCarty, homogeneizaron mezclas de bacterias de *S. pneumoniae* y trataron estos extractos con proteasas, enzimas de degradación del RNA (RNAsa), o enzimas de degradación del DNA (DNAsa). Posteriormente, llevaron a cabo experimentos de transformación con estos extractos tratados. Se mezclaron extractos de células S muertas con células R vivas y se inyectaron en los ratones. Demostraron que los extractos tratados con DNAsa no podían transformar las células R en células S porque el DNA en esta mezcla había sido degradado por la DNasa.

Los extractos tratados con la proteasa o la RNAsa mantenían todavía su capacidad de transformación, ya que el DNA en estas mezclas se mantuvo intacto. Aunque otros estudios con virus fueron esenciales para determinar el papel del DNA, el trabajo de Avery, MacLeod y McCarty proporcionó la prueba definitiva de que el DNA era el material genético causante de la transformación.

Estructura del DNA

Si bien quedó establecido el DNA como material hereditario una importante cuestión quedaba todavía sin resolver: ¿Cuál es la estructura del DNA? Erwin Chargaff aportó algunas ideas sobre esta cuestión mediante el aislamiento de DNA de especies diferentes. El análisis químico del DNA de diferentes especies reveló que el porcentaje de bases del DNA llamadas adeninas era proporcional al porcentaje de bases llamadas timinas, y que el porcentaje de las bases de citosina en el DNA de un organismo era más o menos proporcional al porcentaje de guanina. Esta observación cuantitativa sugería que las bases adenina, timina, citosina y guanina eran componentes estrechamente relacionados en la estructura del DNA, principio importante para recordar por qué, como estudiaremos, estas bases son componentes esenciales del DNA.

La unidad de construcción del DNA es el **nucleótido** (Figura 2.4). Cada nucleótido está formado por una **pentosa** (azúcar de 5 carbonos) llamada desoxirribosa, una molécula fosfato y una **base nitrogenada.** Las bases son los componentes intercambiables de un nucleótido. Cada nucleótido contiene una base, ya sea **adenina (A), timina (T), guanina (G) o citosina (C),** también llamadas As, Ts, Gs y Cs del DNA.

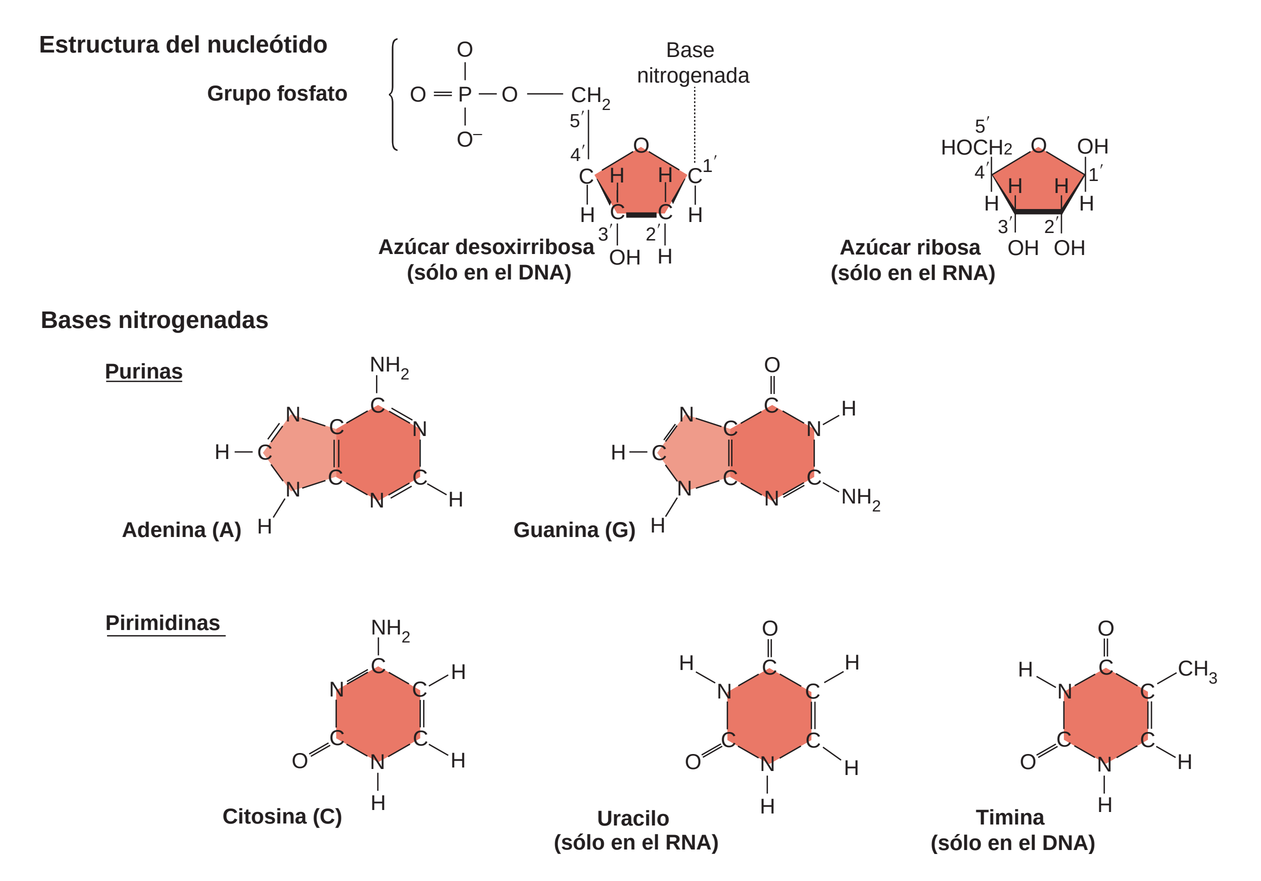


Figura 2.4 Estructura de los nucleótidos Todos los nucleótidos del DNA están formados por una base nitrogenada, ya sea la adenina (A), citosina (C), guanina (G) o timina (T); un azúcar y un grupo fosfato. El azúcar del DNA, la desoxirribosa, se llama pentosa porque contiene cinco átomos de carbono. Las moléculas de RNA contienen un azúcar pentosa llamado ribosa. La pentosa del DNA se denomina «desoxirribosa» porque carece de un oxígeno en el carbono en posición 2 (2') del azúcar en comparación con la ribosa del RNA. La base está unida al carbono en posición 1 (1') del azúcar, y el grupo fosfato se une al carbono en posición 5 (5') del azúcar. Debido a su estructura, la adenina y la guanina son un tipo de bases, llamadas purinas, mientras que la citosina, la timina y el uracilo se denominan pirimidinas.

Los nucleótidos son los bloques de construcción del DNA, pero ¿cómo se ordenan estas estructuras para formar una molécula de DNA? Muchos científicos han contribuido a responder a esta cuestión, pero la estructura definitiva del DNA fue finalmente revelada por James Watson y Francis Crick en los laboratorios Cavendish de Cambridge, Inglaterra. Los químicos Rosalind Franklin y Maurice Wilkins, del University College de Londres, utilizaron cristalografía por rayos X para proporcionar a Watson y Crick valiosos datos sobre la estructura del DNA. Mediante el disparo de un haz de rayos X sobre cristales de DNA, Franklin y Wilkins revelaron un modelo de DNA que indicaba que su estructura podía ser helicoidal. A partir de estos datos, de los resultados de Chargaff y de otros estudios, Watson y Crick construyeron un modelo en alambre del DNA.

Watson y Crick publicaron «La estructura molecular de los ácidos nucleicos: Estructura del ácido nucleico de la desoxirribosa» en la prestigiosa revista *Nature* el 25 de abril de 1953. El primer párrafo de este artículo dice: «Deseamos sugerir una estructura para la sal del ácido nucleico de la desoxirribosa (D.N.A.). Esta estructura tiene nuevas características que son de considerable interés biológico». Dada la importancia del DNA y todo lo que se ha aprendido sobre la estructura del DNA en los últimos 50 años, esta descripción podría ser una de las mayores aportaciones plasmadas en un artículo científico publicado. La importancia de este descubrimiento fue debidamente reconocida en 1962, cuando Watson, Crick y Wilkins, recibieron el Premio Nobel de Medicina.

Watson y Crick determinaron que los nucleótidos están unidos para formar largas cadenas de DNA y que cada molécula de DNA consiste en dos cadenas que se unen y enrollan entre sí para formar una doble hélice (Figura 2.5). Una hebra de DNA es una cadena de nucleótidos unidos por **enlaces fosfodiéster** que conectan el azúcar de un nucleótido al fosfato de un nucleótido adyacente (Figura 2.5). La secuencia de bases en una cadena puede variar. Por ejemplo, un nucleótido que contiene una C puede unirse a un nucleótido que contenga una A, T, G, o a otro nucleótido que contenga una C.

Cada cadena de nucleótidos tiene **polaridad**; hay un *extremo 5′* y un *extremo 3′* de la cadena (Figura 2.5). Esta polaridad se refiere a los carbonos del azúcar desoxirribosa. En el extremo 5′ de una cadena, el fosfato en el carbono 5 no está unido a otro nucleótido, sino que es el carbono 3 el que participa en un enlace fosfodiéster. En el extremo 3′, el fosfato en el carbono 5 está unido a otro nucleótido, pero el carbono 3 no está unido a otro nucleótido. Aunque este aspecto de la estructura de nucleótidos puede parecer trivial, la polaridad del DNA es importante para la replicación y para la manipulación sistemática del DNA en el laboratorio.

Watson y Crick determinaron que cada molécula de DNA constaba de dos cadenas interconectadas que se enrollaban entre sí para formar una doble hélice en sentido dextrógiro, tal vez el modelo molecular más famoso de toda la biología (Figura 2.5). Las dos hebras de una molécula de DNA están unidas por puentes de hidrógeno entre **pares de bases complementarias** de cadenas opuestas (Figura 2.5). La adenina sólo se aparea con la timina, y la guanina sólo con la citosina. A partir de este modelo, las observaciones de Chargaff son fácilmente comprensibles. Las proporciones de A y T son equivalentes en el DNA de un organismo como son las proporciones de G y C porque se aparean entre sí en una molécula de DNA.

Las dos cadenas de nucleótidos en una doble hélice se consideran **antiparalelas** porque la polaridad de cada cadena se invierte respecto a la otra (Figura 2,5). Esta orientación es necesaria para la complementariedad de bases para la alineación y la formación de puentes de hidrógeno entre ellas. La doble hélice se asemeja a una escalera de caracol. Los peldaños de la escalera son los pares de bases complementarias, y los lados de la escalera son las moléculas de azúcar y fosfato, que forman la «columna» del DNA.

¿Qué es un gen?

Los genes se describen a menudo como las unidades heredadas, pero ¿qué es exactamente un gen? Un **gen** es una secuencia de nucleótidos que proporciona a las células las instrucciones para la síntesis de una proteína específica o un tipo particular de RNA. La mayoría de los genes son aproximadamente de 1.000 a 4.000 nucleótidos (nt) de largo, aunque se han identificado muchos genes más pequeños y más grandes. Al controlar las proteínas producidas por una célula, los genes influyen en la apariencia de las células, tejidos y órganos, tanto a través del microscopio como a simple vista. Esta apariencia heredada se llama **rasgo.** A través del DNA de tus células, has heredado rasgos de tus padres tales como el color de ojos y el color de la piel. Los genes no sólo influyen en el metabolismo celular y en el comportamiento y las habilidades cognitivas como la inteligencia, sino también pueden afectar nuestra susceptibilidad a ciertos tipos de enfermedades genéticas.

Algunos rasgos son controlados por un único gen, mientras que otros están determinados por múltiples genes que codifican proteínas que interactúan de manera compleja. En la sección 2.4, estudiaremos cómo los genes dirigen la síntesis de proteínas en las células. A lo largo de este libro, consideraremos ejemplos de genes, sus funciones, y sus muchas aplicaciones en diferentes áreas de la biotecnología.

2.3 Estructura de los cromosomas, replicación del DNA y genomas

Antes de considerar cómo funcionan los genes, es importante que entiendas cómo y por qué el DNA está organizado en cromosomas y cómo se replica el DNA en las células.

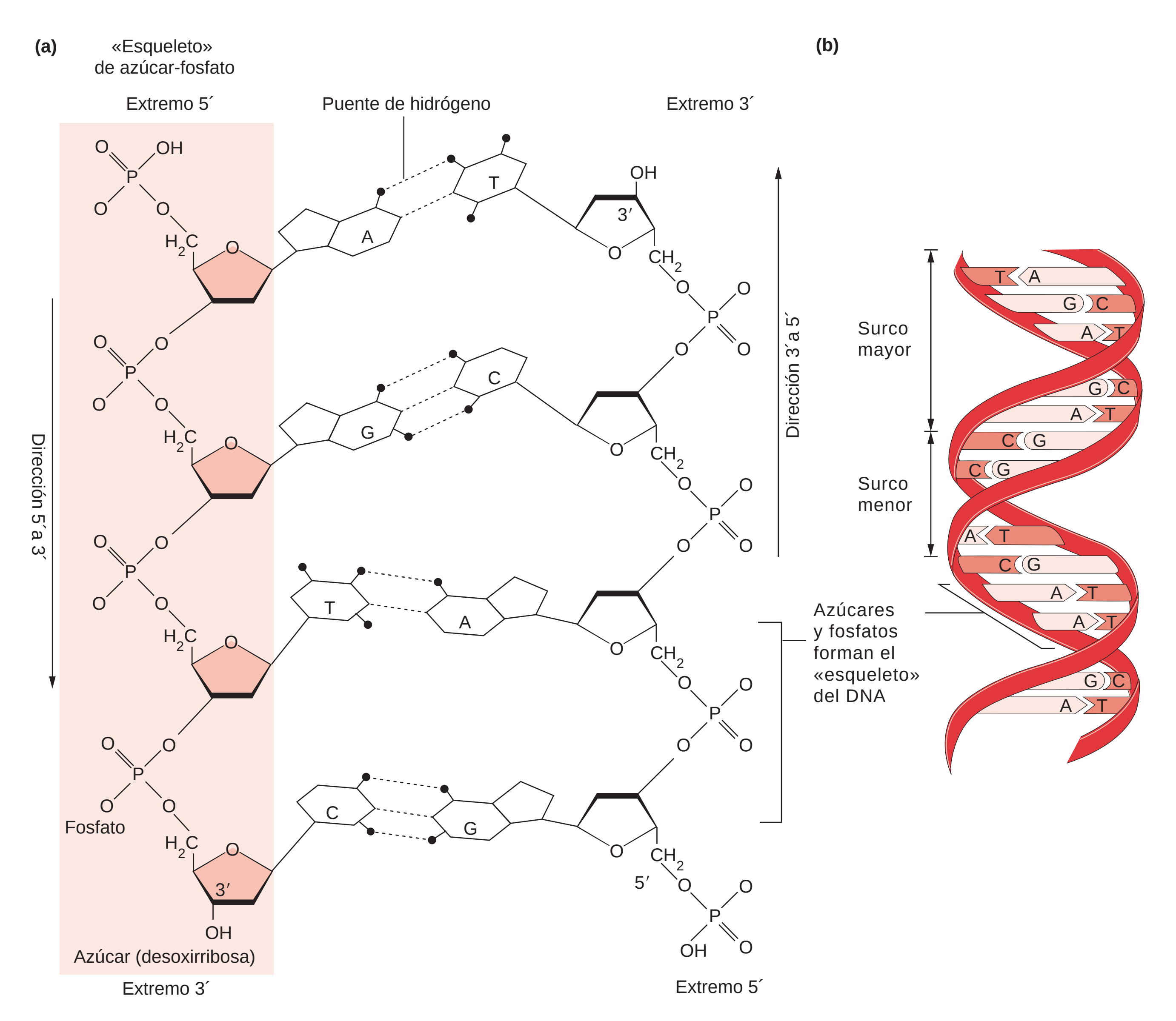


Figura 2.5 El DNA es una doble hélice (a) Dos cadenas de nucleótidos están unidas por puentes de hidrógeno entre pares de bases complementarias. Las bases de adenina (A) se emparejan siempre con las bases de timina (T) y las bases de citosina (C) se aparean con bases de guanina (G). (b) Las dos cadenas se enrollan entre sí de forma que la estructura completa del DNA es una doble hélice con un «esqueleto» de azúcar-fosfato, donde las bases están alineadas en el centro de la hélice.

Estructura del cromosoma

Supongamos que te presentan un desafío. Si lo resuelves, ganarás una matrícula gratuita para el resto de tus cursos de pregrado. Te dan una cesta que contiene 46 paquetes de hilos de diferentes colores todos enmarañados y enredados entre sí. Tu desafío es ordenar los hilos en 46 bolas. ¿Cómo resolver este desafío? Si empiezas cortando los hilos enmarañados al azar, probablemente no tendrás éxito. Por supuesto, si desenredas cuidadosamente los hilos y pones el de cada color hilado en un ovillo, conseguirás finalmente clasificarlos en 46 ovillos. Esta analogía ofrece una visión muy simplificada del reto que representa para una célula humana tener que dividirse e incluso clasificar su DNA en paquetes.

Los 3 mil millones de pares de bases (pb) de DNA en cada célula humana se extenderían alrededor de 2 metros si fueran desenrollados, una asombrosa cantidad de material empaquetado en el pequeño núcleo de cada célula. Este DNA se debe separar de manera uniforme cuando una célula se divide, de lo contrario, la pérdida de DNA puede tener consecuencias devastadoras. Afortunadamente, dichos errores en la separación del DNA son raros, en parte porque las células pueden separar y empaquetar el DNA correctamente en cromosomas.

Dentro del núcleo, el DNA existe en estado relativamente enmarañado. Esto no quiere decir que el DNA esté desenrollado de su estructura de doble hélice, sino más bien que el DNA es un poco laxo y no está plenamente compactado en **cromosomas** firmemente enrollados, aunque todo el DNA en un cromosoma permanece junto dentro del núcleo. Cuando una célula no se divide, el DNA en el núcleo existe como una intrincada combinación de DNA y proteínas de unión a DNA llamadas **histonas** para formar cadenas llamadas **cromatina.** Durante la división celular, la cromatina se enrolla en densas fibras que con el tiempo se enrollan alrededor la una de la otra para formar un cromosoma, un paquete de DNA e histonas, un fuertemente enrolladas (Figura 2.6).

El tamaño y el número de cromosomas varía de una especie a otra. La mayoría de las bacterias tienen un solo cromosoma circular que contiene unos cuantos miles de genes. Los eucariotas contienen normalmente uno o más conjuntos de cromosomas, que tienen forma lineal. La mayoría de las células humanas contienen dos grupos (pares) de 23 cromosomas cada uno, haciendo un total de 46 cromosomas. A través del proceso de fecundación, heredaste 23 cromosomas de tu madre **(cromosomas maternos)** y 23 cromosomas de tu padre **(cromosomas paternos).** Estos pares de cromosomas se llaman **parejas de homólogos,** u **homólogos.** Los cromosomas del 1 al 22 son conocidos como los **autosomas,** el par 23 se denomina **cromosoma sexual,** y consta de los cromosomas X e Y.

Los óvulos humanos y los espermatozoides, llamados células sexuales o **gametos,** contienen un conjunto único de 23 cromosomas, llamado **número haploide (*n*)** de cromosomas. Todas las demás células del cuerpo, como las células de la piel, las células musculares y las células hepáticas se conocen como **células somáticas.** Las células somáticas de muchos organismos tienen dos juegos de cromosomas, denominados **número diploide (2*n*)** de cromosomas. Las células somáticas humanas contienen 46 cromosomas. Las células somáticas de un hombre normal tienen 22 pares de autosomas y un cromosoma X y otro Y, y las células de una mujer normal tienen 22 pares de autosomas y dos cromosomas X.

Los cromosomas sexuales se llaman así porque contienen genes que influyen en los rasgos sexuales y el desarrollo de los órganos reproductivos, mientras originalmente se pensó que los autosomas sobre todo contenían los genes que afectaban a otras características del cuerpo no relacionadas con el sexo, como el color de la piel y de los ojos. Aunque hay genes involucrados en la determinación de los órganos sexuales en el cromosoma Y, hay otros genes, que participan en la determinación del sexo que están presentes en los autosomas, y la mayoría de los genes en el cromosoma X no son necesarios para el desarrollo de los órganos reproductivos.

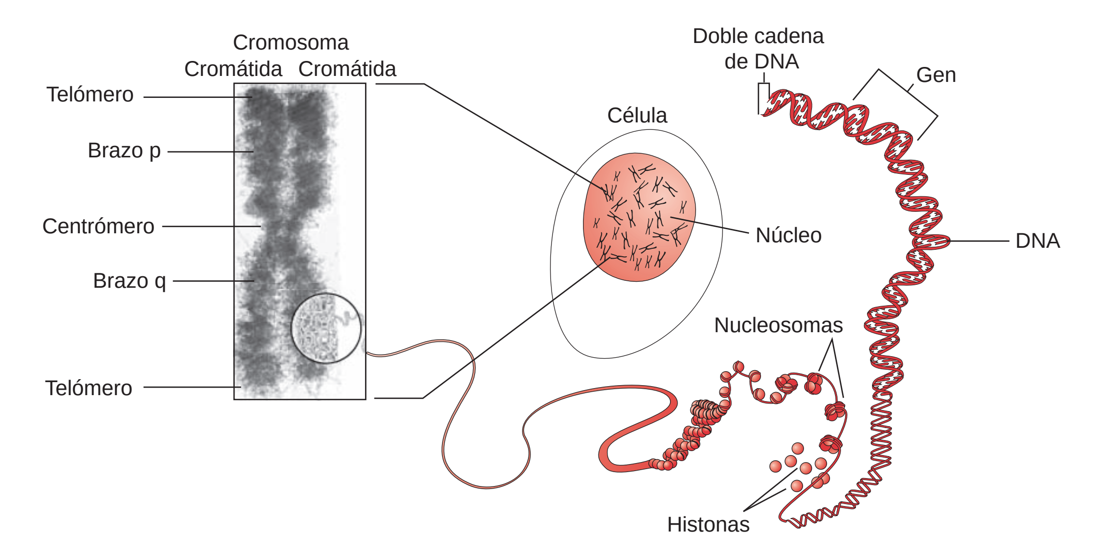


Figura 2.6 **Organización del cromosoma** Los cromosomas son paquetes de DNA muy enrollado y condensado. En una célula que no se divide, el DNA existe en un estado llamado cromatina. Las histonas son las proteínas alrededor de las cuales el DNA se enrolla estrechamente dando una apariencia de «collar de perlas» cuando se ve al microscopio electrónico. Durante la formación de los cromosomas, que se produce cuando las células se dividen, la cromatina se compacta en fibras más apretadas, quedando una estructura superenrollada. En última instancia, estos bucles superenrollados son empaquetados con la ayuda de otras proteínas para crear un cromosoma entero, un conjunto altamente compacto de DNA. Cada cromosoma está formado por dos cromátidas hermanas unidas por un centrómero. Los brazos cromosómicos son las partes de las cromátidas que quedan a los lados del centrómero, denominados brazos p y q. Los extremos de un cromosoma se llaman telómeros.

Varias características son comunes a la mayoría de los cromosomas eucariotas. Los procariotas suelen contener un cromosoma circular con estructuras ligeramente diferentes (véase el Capítulo 5). En eucariotas cada cromosoma está formado por dos estructuras en forma de finas varillas de DNA llamadas **cromátidas hermanas** (Figura 2.6). Las cromátidas hermanas son réplicas exactas la una de la otra, copiadas durante la síntesis del DNA, que se produce justo antes de la formación del cromosoma. Durante la división celular, cada una de las cromátidas hermanas se separa de manera que las células de nueva formación reciben la misma cantidad de DNA que la célula original de la que provienen. Cada uno de los cromosomas eucariotas tiene un solo **centrómero,** una región estrecha del cromosoma formada por DNA y proteínas entrelazadas que mantienen las dos cromátidas hermanas unidas entre sí. Esta región del cromosoma también contiene proteínas que unen los cromosomas a unos orgánulos llamados microtúbulos, que desempeñan un papel esencial en el movimiento y la separación de las cromátidas hermanas durante la división celular.

El centrómero delimita cada una de las cromátidas hermanas en dos brazos: el brazo corto, llamado **brazo p,** y el brazo largo, o **brazo q.** Cada brazo de un cromosoma termina con un segmento llamado **telómero** (Figura 2.6). Los telómeros son secuencias repetitivas de nucleótidos altamente conservadas que son importantes para fijar los cromosomas a la envuelta nuclear. Los telómeros son objeto de una intensa investigación. Como veremos en el Capítulo 11, se cree que los cambios en la longitud de los telómeros desempeñan un papel importante en el proceso de envejecimiento y en el desarrollo de determinados tipos de cáncer.

El análisis del cariotipo para el estudio de los cromosomas

Una de las maneras más comunes para estudiar el número de cromosomas y los aspectos básicos de la estructura de los mismos es preparar un **cariotipo.** En el análisis del cariotipo, las células se extienden sobre un portaobjetos y después se tratan con productos químicos para liberar y teñir los cromosomas. Por ejemplo, bandas G, donde los cromosomas son tratados con un colorante que se fija al DNA, llamado Giemsa, creando una serie de bandas claras y oscuras en los cromosomas teñidos. Cada cromosoma teñido muestra un patrón de bandas único y reproducible que se puede utilizar para identificar los diferentes cromosomas. Los cromosomas pueden ser alineados y apareados basándonos en su patrón de coloración y su tamaño (Figura 2.7). En los seres humanos, el cromosoma 1 es el cromosoma más grande y el cromosoma 21 es el más pequeño. Los cariotipos son muy valiosos para el estudio y comparación de ciertas estructuras cromosómicas. En el Capítulo 11, se considera cómo se utilizan análisis del cariotipo para identificar patologías genéticas humanas asociadas con alteraciones en la estructura y número de los cromosomas.

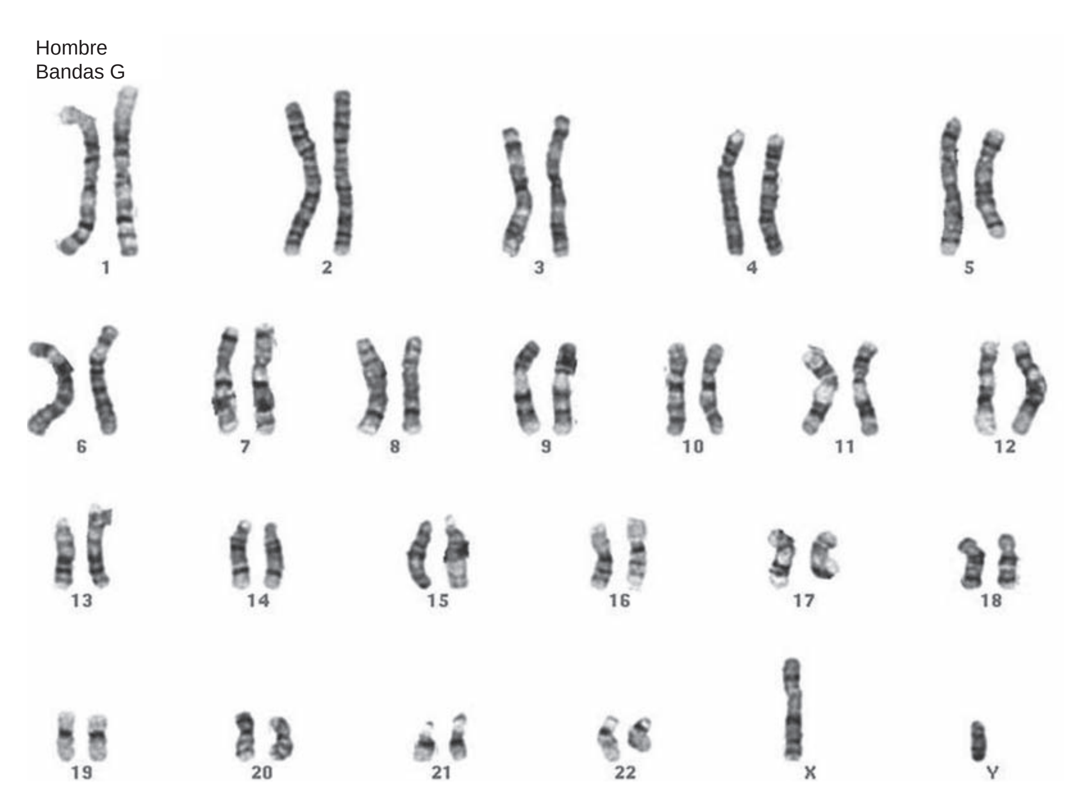


Figura 2.7 Análisis del cariotipo En un cariotipo, las células en división se extienden sobre un portaobjetos de vidrio para liberar sus cromosomas. Los cromosomas se tiñen y alinean en función de su tamaño global, la posición del centrómero y su patrón de tinción, para crear así un cariotipo.

Replicación del DNA

Cuando una célula se divide, es esencial que las nuevas células creadas contengan copias iguales del DNA replicado. Las células somáticas se dividen por un proceso llamado **mitosis** en el que una célula se divide para producir células hijas cada una de las cuales contiene una copia idéntica del DNA de la célula original (parental). Por ejemplo, una célula de piel humana se divide para producir dos células hijas, cada una con 23 pares de cromosomas. Los gametos se forman por un proceso llamado **meiosis,** en el que una célula madre se divide para crear hasta cuatro células hijas, que pueden ser los espermatozoides o los óvulos. Durante la meiosis, el número de cromosomas de las células hijas se reduce a la mitad al número haploide. El espermatozoide y el óvulo contienen un único conjunto de 23 cromosomas. A través de la reproducción sexual, se origina un óvulo fecundado llamado **cigoto.** El cigoto, que se divide por mitosis para formar un embrión y, finalmente, un ser humano completo, contiene 46 cromosomas: 23 cromosomas paternos y 23 maternos.

Antes de la división celular, ya sea por mitosis o meiosis, el DNA debe replicarse en la célula. La replicación del DNA se produce por un proceso llamado **replicación semiconservativa.** La Figura 2.8 muestra una visión general de este proceso. Antes de que comience la replicación, las dos hebras complementarias de la doble hélice deben ser separadas en hebras simples. Una vez separadas, las dos cadenas sirven como molde para copiar dos nuevas cadenas de DNA. Al final de este proceso, se habrán formado dos nuevas dobles hélices. Cada hélice contiene una hebra de DNA original (parental) y una cadena de nueva síntesis, de ahí el término «semiconservativa».

La replicación del DNA se produce en una serie de etapas en las que actúan diferentes proteínas. Debido a que los procariotas contienen cromosomas circulares, la replicación del DNA en procariotas es ligeramente diferente de la de los eucariotas.

PyR

P ¿Todas las especies tienen el mismo número de cromosomas?

R No. El número de cromosomas es casi tan diverso como el número de especies diferentes. Las células humanas tienen un número haploide de 23. Entre paréntesis te ofrecemos los números haploides para otras especies: moscas de la fruta (4), levaduras (16), gatos (19) y perros (39).

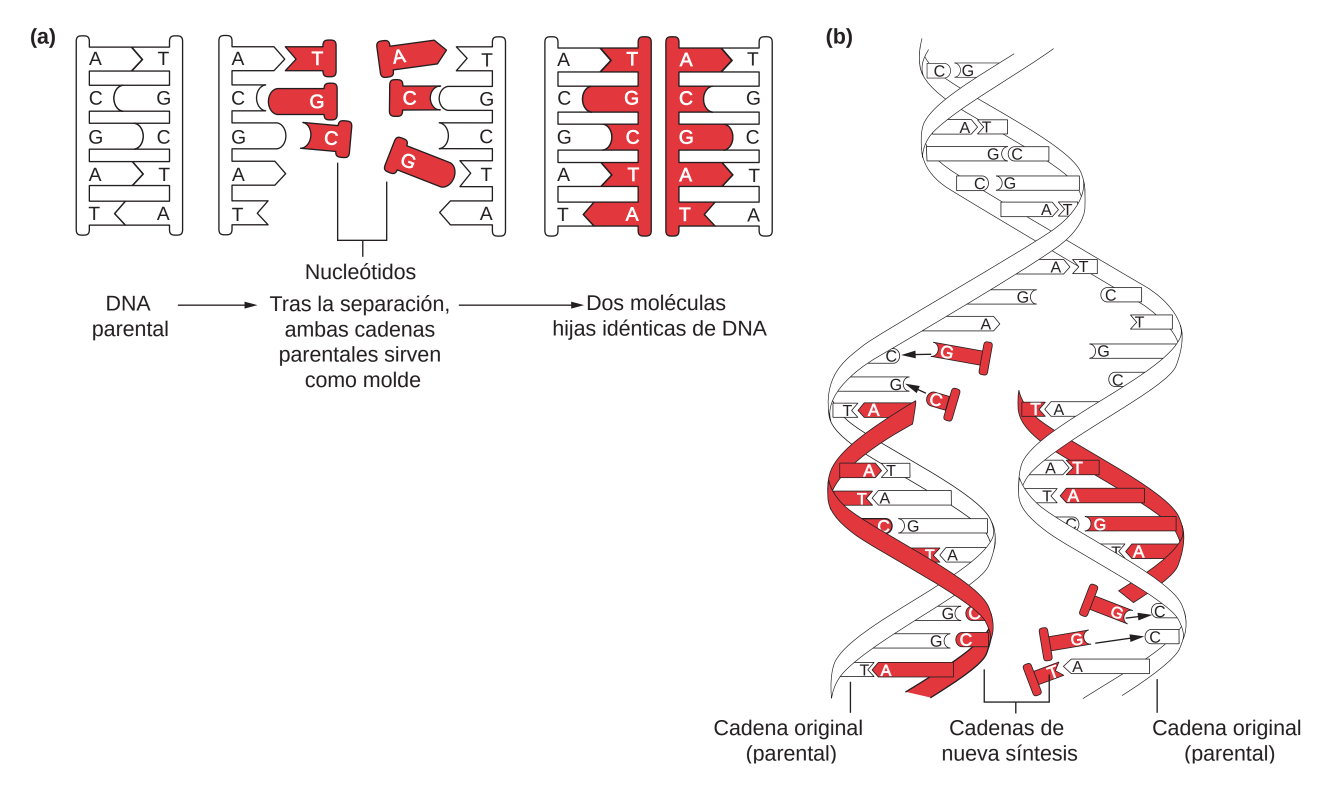


Figura 2.8 Resumen de la replicación del DNA Primero las cadenas de nucleótidos de una molécula de DNA deben separarse (a). Cada hebra sirve como molde para la síntesis de una nueva hebra, produciendo dos moléculas de DNA, cada una con una cadena original y otra cadena de nueva síntesis (b).

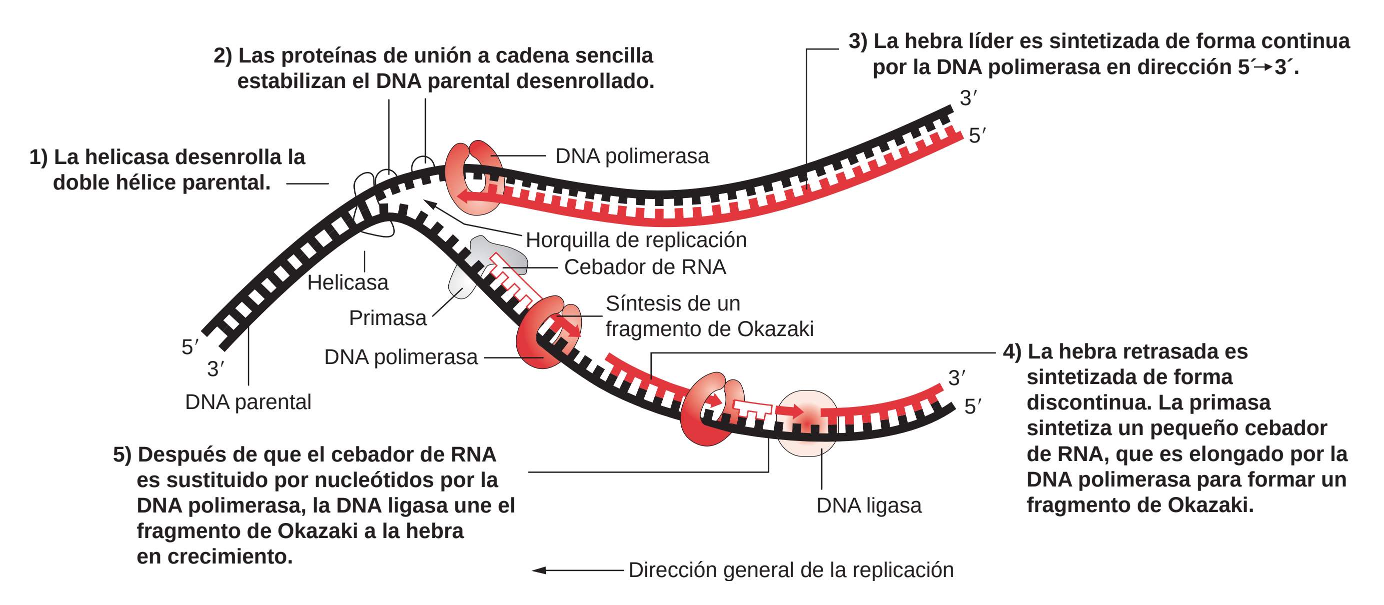


Figura 2.9 **Replicación semiconservativa del DNA**

Aquí consideraremos los principales participantes y los conceptos clave en la replicación del DNA en general, pero ten en cuenta que existen sutiles diferencias que distinguen el proceso de replicación en procariotas y eucariotas. La replicación es iniciada por la **DNA helicasa,** una enzima que separa las dos cadenas de nucleótidos, literalmente, «descomprime» el DNA rompiendo los puentes de hidrógeno entre pares de bases complementarias (Figura 2.9). Las cadenas separadas forman una horquilla de replicación. Conforme la helicasa desenrolla el DNA, las **proteínas de unión a cadena sencilla** se unen a cada hebra y evitan que las bases se vuelvan a aparear y se forme de nuevo una doble hélice. Este paso es importante, porque las hebras de DNA deben permanecer separadas durante la replicación del DNA. La separación de las cadenas complementarias se produce en las regiones del DNA llamadas **orígenes de replicación.** Los cromosomas bacterianos tienen un solo origen. Debido a su gran tamaño, los cromosomas eucariotas tienen múltiples orígenes. Iniciar la replicación del DNA en múltiples orígenes permite a los cromosomas eucariotas ser copiados rápidamente.

El siguiente paso en la replicación del DNA requiere de la presencia de pequeños segmentos de RNA de aproximadamente 10 a 15 nucleótidos de largo. Estas secuencias, llamadas cebadores u oligonucleótidos, son sintetizados por una enzima llamada **primasa** (en eucariotas, una forma de la DNA polimerasa llamada (alfa) actúa como la primasa). Los cebadores inician el proceso de replicación del DNA porque sirven como sitios de unión para las **DNA polimerasas,** las enzimas clave que sintetizan las nuevas hebras de DNA. Existen diferentes formas de DNA polimerasa involucradas en la copia del DNA. En bacterias, la enzima **DNA polimerasa III** (llamada DNA polimerasa en eucariotas) se une a cada cadena simple, moviéndose a lo largo de la cadena y usándola como molde para copiar una nueva cadena de DNA. Durante este proceso, la DNA polimerasa utiliza nucleótidos presentes en la célula para sintetizar cadenas complementarias de DNA. La DNA polimerasa siempre trabaja en una dirección, sintetizando las nuevas cadenas con orientación de 5ʹ a 3ʹ y añadiendo nucleótidos al extremo 3ʹ de una cadena de nueva síntesis (Figura 2.9) mediante la formación de enlaces fosfodiéster entre el fosfato de un nucleótido y el azúcar del nucleótido anterior.

Debido a que la DNA polimerasa sólo actúa en sentido 5ʹ a 3ʹ, la replicación a lo largo de una cadena, la **cadena líder,** se produce de forma continua (Figura 2.9). La síntesis de la cadena opuesta, la **cadena retrasada,** se produce de forma discontinua debido a que la DNA polimerasa debe esperar a que la horquilla de replicación se abra. Sobre la cadena retrasada, se sintetizan segmentos cortos de DNA llamados fragmentos de Okazaki (llamados así por Reiji y Tuneko Okazaki, los científicos que descubrieron estos fragmentos) conforme la DNA polimerasa trabaja hacia fuera de la horquilla de replicación. La **DNA ligasa** cataliza los enlaces covalentes entre los fragmentos de Okazaki en la cadena retrasada para garantizar que no hay huecos en el esqueleto fosfodiéster. Por último, se retiran los cebadores, y estos huecos son rellenados por la DNA polimerasa.

Recuerda las funciones de las enzimas implicadas en la síntesis de DNA: en el próximo capítulo veremos cómo la DNA polimerasa y la DNA ligasa se usan rutinariamente en el laboratorio durante la clonación de DNA y análisis de experimentos.

¿Qué es un genoma?

El DNA contiene las instrucciones para la vida: los genes. Todo el DNA de las células de un organismo se denomina **genoma.** Existen aproximadamente 20.000 genes re-

PyR

P ¿Está relacionado el tamaño del genoma de un organismo con su complejidad?

R Por supuesto que no. El tamaño del genoma varía bastante de un organismo a otro, pero el tamaño del genoma de un organismo no se refiere a su complejidad.

Los seres humanos y los ratones comparten un número similar de pares de bases (aproximadamente 3 mil millones) y un número similar de genes, alrededor de 20.000 a 25.000 genes estimados, aunque algunos científicos creen que el número de genes del genoma de los humanos puede estar más cerca de 18.000. Algunas plantas como *Arabidopsis thaliana*, contienen aproximadamente 25.000 genes de un genoma de 97 millones de pares de bases; las moscas de la fruta (*Drosophila melanogaster*) tienen alrededor de 13.000 genes en un genoma de 165 millones de pares de bases. Aunque los «no científicos» podrían no considerar los ratones o las plantas tan «complejos» como los seres humanos, los estudios del genoma nos dicen que la complejidad es mucho más que sólo el número de genes que contiene un organismo. Es incorrecto pensar que los seres humanos son más complejos que otras formas de vida. Por ejemplo, *A. thaliana*, una planta que ha demostrado ser muy valiosa para muchos estudios de genética, contiene genes que le permiten obtener energía de la luz solar mediante la fotosíntesis. Las células humanas no pueden convertir la energía mediante la fotosíntesis. Todos los organismos vivos son complejos, con capacidades únicas dictadas por los genes y los tipos de interacciones entre las proteínas producidas por los genes.

partidos entre 3 mil millones de pares de bases de DNA contenidos en el genoma humano. El estudio de los genomas, una disciplina llamada **genómica,** es actualmente una de las áreas más activas y de rápido avance de la biología. A lo largo de este libro, se discuten los aspectos del **Proyecto del Genoma Humano,** un esfuerzo mundial para identificar todos los genes humanos en cada cromosoma junto con varios otros objetivos. El Proyecto del Genoma Humano es una enorme empresa en la genómica que está proporcionando a los científicos una visión fascinante sobre los genes humanos, sus ubicación y funciones.

2.4 El RNA y la síntesis de proteínas

Los genes regulan las actividades y funciones dentro de una célula dirigiendo la síntesis de proteínas. Algunas de las múltiples funciones de estas moléculas esenciales son las siguientes:

- Las proteínas son necesarias para la estructura de la célula como componentes importantes de la membrana y el citoplasma.
- Las proteínas como enzimas llevan a cabo reacciones esenciales para la célula.
- Las proteínas desempeñan papeles importantes como hormonas y otras moléculas de «señalización» que las células utilizan para comunicarse entre sí.
- Las proteínas receptoras se unen a otras moléculas, como hormonas y proteínas de transporte, permitiendo entrar y salir de las células diversas moléculas.
- Las proteínas en forma de anticuerpos reconocen y destruyen materiales extraños en el cuerpo.

Simplemente, las células no pueden funcionar sin proteínas. ¿Cómo hace las proteínas el DNA? En realidad, el DNA no hace las proteínas directamente. Para sintetizar las proteínas, los genes se copian primero en moléculas llamadas **RNA mensajero (mRNA)** (Figura 2.10). La síntesis de RNA se denomina **transcripción** porque los genes son literalmente transcritos (copiados) de un código de DNA a un código de RNA. A su vez, las moléculas de mRNA, que son copias exactas de los genes, contienen información que es descifrada en instrucciones para hacer una proteína a través de un proceso conocido como **traducción.**

Aparte del hecho de que las moléculas de RNA son de una sola hebra, la composición química del RNA es muy similar a la del DNA. Sus bases son muy similares a las del DNA. Una diferencia clave es que el RNA contiene una base llamada uracilo (U) en lugar de timina (T) (véase la Figura 2.4).

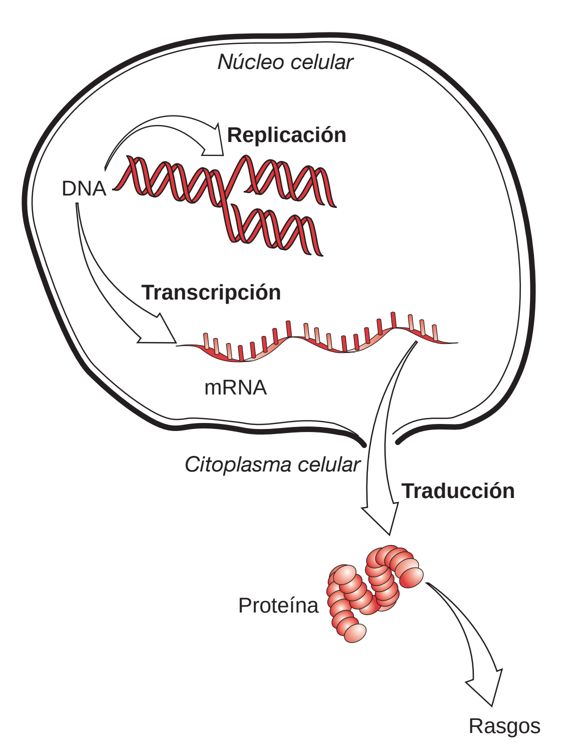


Figura 2.10 El flujo de información genética en las células El DNA es copiado a RNA en el proceso de transcripción. El RNA dirige la síntesis de proteínas durante la traducción. A través de las proteínas los genes controlan las propiedades o rasgos metabólicos o físicos de un organismo.



HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Las enzimas implicadas en la replicación del DNA tienen valiosas funciones, esenciales en la investigación en biología molecular

Este capítulo presenta los principios básicos de la estructura del DNA, de la replicación, la transcripción y la traducción, y ofrece información fundamental sobre los genes y genomas. Los principios que hemos discutido aquí son importantes para comprender no sólo qué son los genes y cómo funcionan, sino también muchos de los elementos que intervienen en procesos como la replicación del DNA que se han convertido en herramientas esenciales para la investigación en biología molecular.

En el próximo capítulo aprenderás cómo los científicos pueden identificar, clonar y analizar los genes, un aspecto fascinante de la investigación en biología molecular y biotecnología. La tecnología para la clonación y el estudio de los genes sólo fue posible cuando los científicos aprendieron más acerca de las enzimas que participan en procesos como la replicación del DNA. Por ejemplo, la DNA polimerasa, la enzima clave que sintetiza el DNA durante la replicación semiconservativa, se utiliza habitualmente en los laboratorios de biología molecular para copiar el DNA. Del mismo modo, la RNA polimerasa también se emplea en biología molecular. Además, muchos procedimientos de clonación de DNA se basan en el uso de la DNA ligasa para cortar y pegar fragmentos de DNA de diferentes fuentes-, un proceso llamado tecnología del DNA recombinante.

Dado que la mayoría de estas enzimas son relativamente baratas y fáciles de obtener a través de empresas de suministro, su uso se ha convertido en algo común en la mayoría de los laboratorios de biología molecular. Sin la comprensión de las enzimas que actúan sobre el DNA y el RNA y sus funciones, muchas aplicaciones actuales de la biotecnología y la mayoría de técnicas utilizadas rutinariamente en la investigación en biología molecular serían imposibles.

La otra diferencia principal es que el RNA contiene una pentosa llamada ribosa, que tiene una estructura ligeramente diferente a la del azúcar desoxirribosa contenida en el DNA.

Una manera fácil de recordar la diferencia entre la transcripción y la traducción es recordar que la traducción implica un cambio del código del RNA al de las proteínas, al igual que la traducción de un idioma a otro. A través de la producción de mRNA y de la síntesis de proteínas, el DNA controla las propiedades de una célula y su rasgos (Figura 2.11). Estos procesos de transcripción y traducción dirigen el flujo de información genética en las células, controlando la actividad y las propiedades de una célula. Aquí se estudian los principios básicos de la transcripción y la traducción y los diferentes aspectos de cómo la expresión de los genes puede ser controlada por las células.

Copiar el código: Transcripción

¿Cómo se utiliza el DNA como molde para hacer RNA? La **RNA polimerasa** es la enzima clave de la transcripción. Dentro del núcleo, la RNA polimerasa desenrolla la hélice de DNA y luego copia una cadena de DNA en RNA. A diferencia de la replicación del DNA, donde la molécula entera de DNA se copia, la transcripción se produce sólo en los segmentos de un cromosoma que contienen genes. ¿Cómo sabe la RNA polimerasa por dónde empezar la transcripción? Junto a la mayoría de los genes, existe un **promotor,** que es una secuencia específica de nucleótidos que permite a la RNA polimerasa unirse a determinados lugares próximos a los genes. Como veremos más adelante en detalle en este capítulo, las proteínas llamadas **factores de transcripción** ayudan a la RNA polimerasa a encontrar el promotor y unirse al DNA, y las secuencias llamadas **potenciadores** también pueden desempeñar un importante papel en la transcripción.

Después de que la RNA polimerasa se une al promotor, desenrolla una región del DNA para separar las dos hebras. Sólo una de las cadenas, llamada **cadena molde** (la cadena opuesta se llama *cadena codificante*), es copiada por la RNA polimerasa. La presencia del promotor determina que las cadenas de DNA sean transcritas. Una vez orientada correctamente, la RNA polimerasa actúa en dirección 5′ a 3′ a lo largo de la cadena molde de DNA para copiar una cadena complementaria de RNA mediante la formación de enlaces fosfodiéster entre los ribonucleótidos de la misma forma que la DNA polimerasa copia el DNA (Figura 2.11). Cuando la RNA polimerasa llega al final de un gen, se encuentra una secuencia de terminación. Estas secuencias o bien unen proteínas específicas o pares de bases para crear bucles al final del RNA. Como resultado, la RNA polimerasa y el RNA recién formado se liberan de la molécula de DNA. A diferencia de la replicación del DNA donde el DNA se copia sólo una vez cada vez que una célula se divide, se transcriben varias copias de mRNA de cada gen en la transcripción. A veces una célula transcribe miles de copias de mRNA de un gen. Más adelante en esta sección, veremos que las células con un alto requerimiento de una proteína particular suelen producir grandes cantidades de mRNA para codificar esta proteína.

La transcripción produce diferentes tipos de RNA

Ya hemos visto que el mRNA se produce cuando se copian muchos genes a RNA. Otros dos tipos de RNA, el **RNA de transferencia (tRNA)** y el **RNA ribosomal (rRNA),** también son producidos por la transcripción. Diferentes RNA polimerasas producen cada tipo de RNA. Como aprenderemos pronto, sólo el mRNA lleva la información que codifica para la síntesis de una proteína, pero el tRNA y rRNA son también esenciales para la síntesis de proteínas.

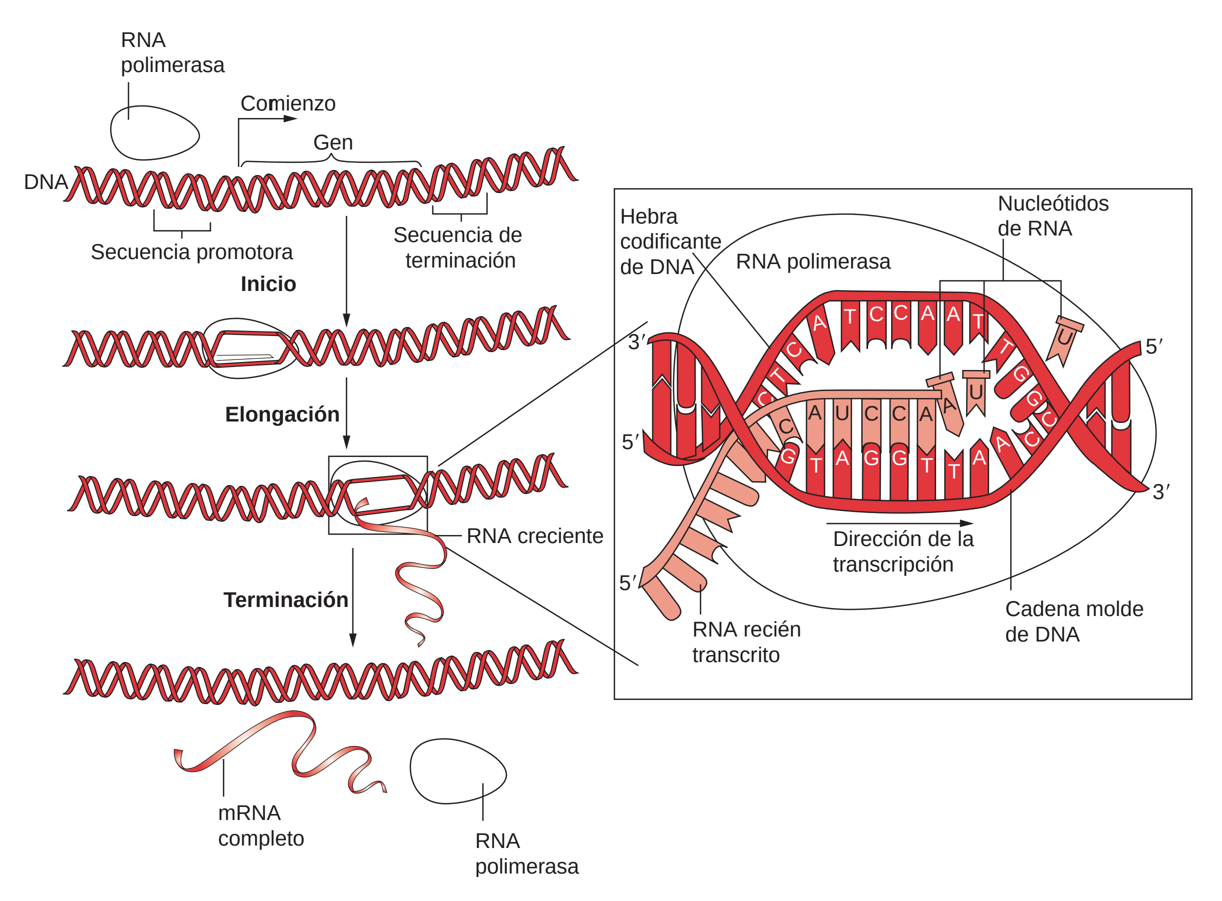


Figura 2.11 **La transcripción** La transcripción comienza cuando la RNA polimerasa se une al promotor del DNA, adyacente a una secuencia de genes y desenrolla el DNA. La RNA polimerasa se mueve a lo largo del DNA copiando una cadena de RNA. Cuando la RNA polimerasa llega a una secuencia de terminación, se libera del DNA y finaliza la transcripción.

Los científicos han descubierto recientemente una nueva clase de RNA no codificante de proteínas denominadas **microRNA (miRNA).** Los microRNA forman parte de una familia, en rápido crecimiento, de moléculas pequeñas de RNA de 20 a 25 nucleótidos que desempeñan nuevas funciones en la regulación de la expresión génica. Más adelante en el capítulo se analizará brevemente el papel de los miRNA.

Procesamiento de mRNA

En las células eucariotas, el mRNA inicial copiado de un gen se denomina **transcrito primario (pre-mRNA).** Este mRNA es inmaduro y no es totalmente funcional. Los transcritos primarios sufren una serie de modificaciones, llamadas en conjunto procesamiento del mRNA, antes de estar listos para la síntesis de proteínas. Una modificación consiste en el **corte y empalme del RNA** (Figura 2.12). Cuando se descubrieron los detalles de la transcripción por primera vez, los científicos se sorprendieron al saber que los genes se encuentran interrumpidos por tramos de DNA que no contienen información codificante de proteínas, son los llamados **intrones.** Los intrones se intercalan entre exones, secuencias que codifican las proteínas de un gen. Los intrones y los exones se copian durante la transcripción del mRNA. Antes de que el mRNA pueda ser utilizado para hacer una proteína, los exones deben colocarse juntos. Hagamos una simple comparación y pensemos en los intrones como letras insertadas aleatoriamente en una frase que deben ser sacadas para que la frase tenga sentido. En el proceso de empalme, se cortan los intrones y se sacan fuera del transcrito primario y los exones adyacentes se unen para formar una molécula de mRNA totalmente funcional sin intrones.

El corte y empalme proporciona flexibilidad a diferentes tipos de proteínas que en última instancia pueden ser producidas a partir de un único gen. Cuando los genes fueron descubiertos, los científicos pensaban que un solo gen podía producir una sola proteína. Pero al ser revelado el proceso de empalme, quedó claro que cuando un gen contiene varios exones, el corte y empalme no siempre se producen de la misma forma. Como resultado, se pueden reproducir múltiples proteínas a partir de un único gen. En un complejo proceso llamado **empalme o ayuste alternativo,** en ocasiones el empalme puede unir exones determinados y *sacar fuera* otros exones, es decir tratarlos como intrones (Figura 2.12b). Este proceso crea múltiples mRNA de diferentes tamaños de un mismo gen. Cada mRNA puede entonces ser utilizado para pro-

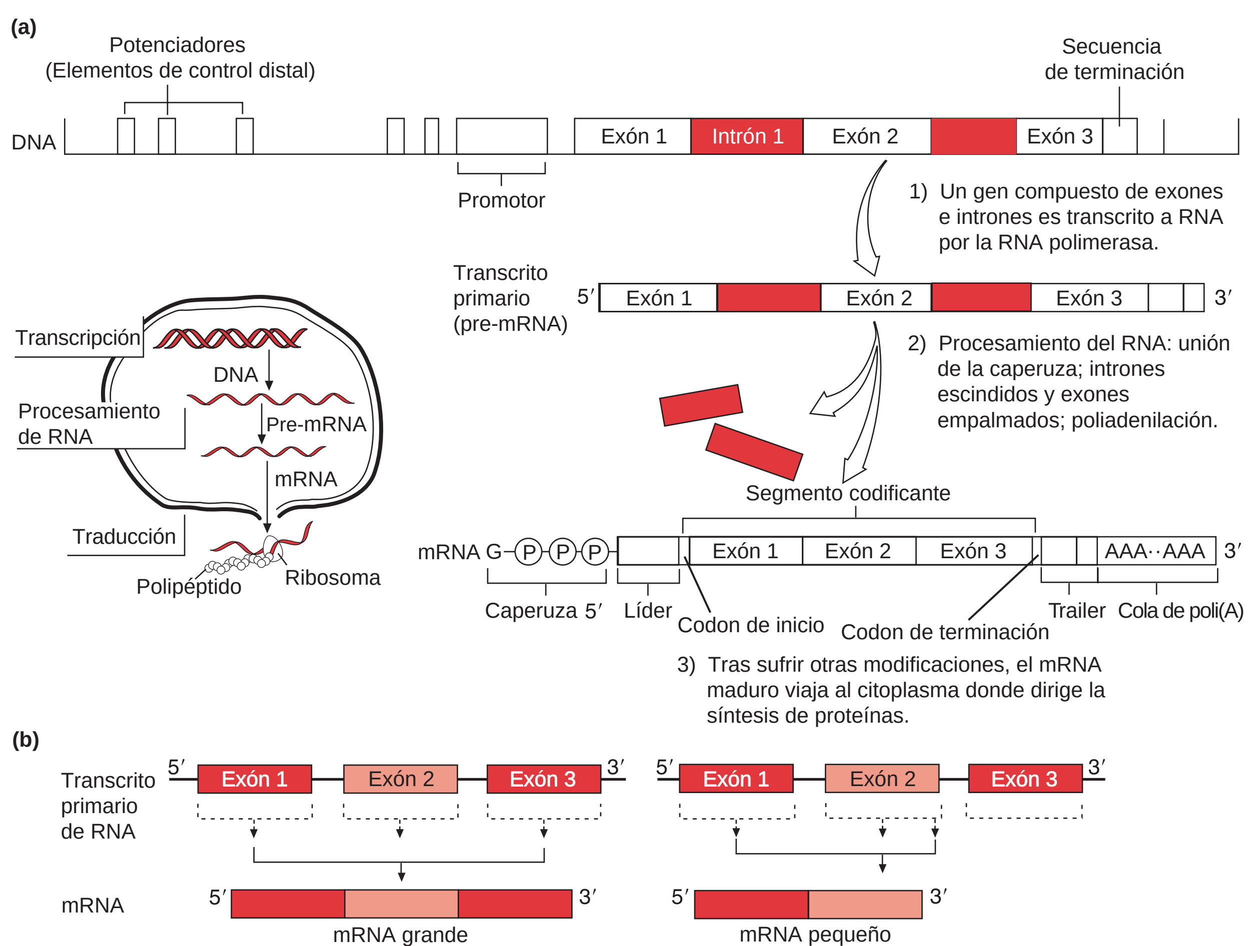


Figura 2.12 Gen eucariota y procesamiento del mRNA (a) La transcripción de un gen eucariota produce un transcrito primario o pre-mRNA. El transcrito primario sufre un procesamiento mediante corte y empalme del RNA, la adición de una caperuza 5', y la poliadenilación. Finalmente, tras el procesamiento, el mRNA está listo para su exportación al citoplasma, donde se traducirá en una proteína. (b) El corte y empalme alternativo puede producir diferentes mRNA y productos proteicos del mismo gen. Observa que el mRNA más grande en la parte izquierda contiene tres exones empalmados, pero que el mRNA más corto de la derecha contiene sólo dos exones unidos.

ducir proteínas diferentes con distintas funciones, a veces únicas. El empalme alternativo permite que una misma secuencia de un gen produzca proteínas diferentes. Por ejemplo, ciertos genes que se utilizan para producir anticuerpos, sufren empalme alternativo para producir anticuerpos que se unen a la superficie celular, mientras que otros anticuerpos con estructuras diferentes les hacen ser secretados al torrente sanguíneo. Empalmes similares tienen lugar en genes de moléculas neurotransmisores entre otros muchos. De hecho, originalmente los científicos creían que el genoma humano contenía aproximadamente 100.000 genes basándose en el número previsto de proteínas producidas por las células humanas. Como aprenderás en el Capítulo 3, los científicos del genoma se sorprendieron mucho al encontrar que el genoma humano contenía sólo alrededor de 20.000 genes. La razón principal de esta discrepancia es que muchos de los genes humanos pueden ser empalmados de diferentes maneras, y se ha estimado que alrededor del 60 por ciento de los genes humanos pueden utilizar el empalme alternativo.

Otro tipo de procesamiento se produce en el extremo 5‘ del mRNA, donde se agrega una base de guanina que contiene un grupo metilo (Figura 2.12). Conocida como caperuza 5′, esta estructura juega un papel importante en el reconocimiento del ribosoma del extremo 5′ de la molécula de mRNA durante la traducción. Por último, en un proceso llamado **poliadenilación,** una cadena de nucleótidos de adenina de alrededor de 100 a 300 nucleótidos de longitud se añade al extremo 3‘ del mRNA creando una «cola» de poli(A) (Figura 2.12). Esta cola protege el mRNA de las enzimas de degradación del RNA en el citoplasma, aumentando su estabilidad y disponibilidad para la traducción. Tras el procesamiento, un mRNA sale del núcleo y entra en el citoplasma donde se encuentra ahora listo para su traducción (Figura 2.12).

Traducción del código: síntesis de proteínas

La función última de un gen es producir una proteína. Hemos visto cómo el RNA se produce a través de la trans-

cripción. Aquí veremos una breve reseña de la traducción, el uso de la información del mRNA para sintetizar una proteína a partir de aminoácidos. La traducción se produce en el citoplasma de las células como un proceso de múltiples pasos que implica varios tipos diferentes de moléculas de RNA. Será mucho más fácil entender los detalles de la traducción si estás familiarizado con las funciones principales de cada tipo de RNA. Estos son los componentes de la traducción:

- El RNA mensajero (mRNA): copia exacta de un gen. Actúa como un «mensajero» portando el código genético, codificado por el DNA, desde el núcleo hasta el citoplasma, donde esta información se puede leer para producir una proteína. Los RNA mensajeros varían en tamaño, desde aproximadamente 1.000 nucleótidos a varios miles de nucleótidos de longitud.
- El RNA ribosómico (rRNA: moléculas cortas de cadena sencilla de alrededor de 1.500 a 4.700 nucleótidos de largo. Los RNA ribosómicos son importantes componentes de los **ribosomas**, orgánulos que son esenciales para la síntesis de proteínas. Los ribosomas reconocen y se unen al mRNA y «leen» el mRNA durante la traducción.
- El RNA de transferencia (tRNA): moléculas que transportan aminoácidos al ribosoma durante la síntesis de proteínas. Las moléculas de RNA de transferencia son de aproximadamente 75 a 90 nucleótidos de tamaño.

Ya hemos discutido los detalles de la estructura del mRNA, pero antes de explorar los detalles de la traducción, necesitas estar familiarizado con el código genético del mRNA y de la estructura específica de los ribosomas y el tRNA.

El código genético

¿Qué es el **«código genético»** contenido dentro del mRNA? Como verás en breve, los ribosomas leen el código y, a continuación, producen proteínas, que están formadas por la unión de bloques de construcción llamados **aminoácidos** (véase el Apéndice 2). Una cadena de aminoácidos unidos por enlaces covalentes es un **polipéptido.** Algunas proteínas constan de una sola cadena de polipéptidos, mientras que otras contienen varias cadenas de polipéptidos que deben enrollarse y doblarse entre ellas para formar complicadas estructuras tridimensionales. Estudiaremos la estructura de la proteína más en detalle en el Capítulo 4. Las proteínas pueden contener una combinación de hasta 20 aminoácidos diferentes, sin embargo, hay sólo cuatro bases en las moléculas de mRNA, así que ¿cómo funciona este código? ¿Qué información están decodificando los ribosomas para decirle a una célula qué aminoácidos pertenecen a una proteína? Si sólo hay cuatro nucleótidos en el mRNA, ¿cómo puede el mRNA proporcionar información para codificar de 20 aminoácidos diferentes?

Las respuestas a estas preguntas se encuentran en el código genético, un aspecto fascinante de la biología porque el lenguaje de la genética es universal, utilizado por prácticamente todos los seres vivos. El código funciona en unidades de tres nucleótidos llamados **codones,** que están contenidos dentro de las moléculas de mRNA. Cada uno de los codones codifica para un aminoácido (Tabla 2.3). Por ejemplo, observa que el codón UAC codifica para el aminoácido tirosina, y el codón de UGC codifica para el aminoácido cisteína. Aunque cada uno de los codones codifica para un aminoácido, hay flexibilidad en el código genético. Existen 64 codones potenciales diferentes correspondientes a todas las combinaciones posibles de las cuatro bases posibles reunidas en codones de tres nucleótidos (4^3). Pero debido a que hay sólo 20 aminoácidos, la mayoría de los aminoácidos pueden ser codificados por más de un codón. Por ejemplo, observa en la Tabla 2.3 que el aminoácido lisina puede ser codificado por AAA y AAG. Tener una redundancia de codones aumenta la eficiencia de la traducción. Algunos están presentes en los codones de mRNA con mayor frecuencia que otros, del mismo modo que algunas palabras en español se prefieren sobre otras con significados idénticos.

También están contenidos en el código genético los codones que dicen a los ribosomas por dónde empezar y por dónde terminar la traducción. El codón de inicio, AUG, codifica para el aminoácido metionina y señala el punto de partida para la traducción del mRNA. Como resultado, el primer aminoácido en muchas proteínas es la metionina, aunque este aminoácido se elimina poco después de la traducción en algunas proteínas. Los codones de parada terminan la traducción. UGA es un codón de parada muy común en muchos mRNA, pero UAA y UAG también son codones de terminación (Tabla 2.3). Los codones de parada no codifican para aminoácidos, sino que simplemente señalan el final de la traducción.

Debido a que el código genético es universal, es utilizado por las células en los seres humanos, bacterias, plantas, lombrices de tierra, moscas de la fruta y todas las demás especies. Hay algunas diferencias sutiles al código en ciertas especies, pero a nivel básico funcionan de la misma manera en toda la biología. Dado que el código es universal, los biólogos pueden utilizar técnicas de la llamada tecnología del DNA recombinante para clonar un gen humano, como el gen de la insulina, e insertarlo en una bacteria de forma que las células bacterianas transcriban y traduzcan la insulina, una proteína que normalmente no producen. Otro aspecto útil del código genético universal es que permite a los científicos clonar un gen de una especie como un ratón y luego usar la información de la secuencia del gen del ratón para identificar un gen similar en los seres humanos. Debido a que diferentes especies comparten un código genético común, este enfoque es una estrategia muy común para la identificación de genes humanos, incluyendo muchos que participan en enfermedades.

Tabla 2.3 EL CÓDIGO GENÉTICO

		Segunda posición					
		U	C	A	G		
Primera posición (extremo 5')	U	UUU UUC] Fenilalanina (Phe) UUA UUG] Leucina (Leu)	UCU UCC UCA UCG] Serina (Ser)	UAU UAC] Tirosina (Tyr) UAA Parada UAG Parada	UGU UGC] Cisteína (Cys) UGA Parada UGG Triptófano	U C A G	Tercera posición (extremo 3')
	C	CUU CUC CUA CUG] Leucina (Leu)	CCU CCC CCA CCG] Prolina (Pro)	CAU CAC] Histidina (His) CAA CAG] Glutamina (Gln)	CGU CGC CGA CGG] Arginina (Arg)	U C A G	
	A	AUU AUC AUA] Isoleucina (Ile) AUG Metionina (Met) START	ACU ACC ACA ACG] Treonina (Thr)	AAU AAC] Asparagina (Asn) AAA AAG] Lisina (Lys)	AGU AGC] Serina (Ser) AGA AGG] Arginina (Arg)	U C A G	
	G	GUU GUC GUA GUG] Valina (Val)	GCU GCC GCA GCG] Alanina (Ala)	GAU GAC] Ácido aspártico (Asp) GAA GAG] Ácido glutámico (Glu)	GGU GGC GGA GGG] Glicina (Gly)	U C A G	

Ribosomas y moléculas de tRNA

Los ribosomas son estructuras complejas formadas por agregados de rRNA y proteínas que forman estructuras llamadas subunidades. Cada ribosoma contiene dos subunidades, grande y pequeña. Estas subunidades se asocian para formar dos ranuras, llamadas **sitio A** y **sitio P,** en las que las moléculas de tRNA se pueden unir, y el **sitio E** a través del cual las moléculas de tRNA salen del ribosoma (Figura 2.13).

Los RNA de transferencia son moléculas pequeñas de menos de 100 nucleótidos de largo. Las moléculas de RNA de transferencia se pliegan de forma intrincada, y varios nucleótidos del tRNA se aparean unos con otros. Como resultado, un tRNA asume una estructura llamada hoja de trébol, porque, como unas regiones de la molécula se aparean, otros segmentos quedan libres creando lazos. En un extremo de cada tRNA hay un lugar de unión de aminoácidos (sitio Figura 2.13b). Las enzimas en el citoplasma llamadas aminoacil-tRNA sintetasas unen un único aminoácido a cada molécula de tRNA, creando lo que se conoce como **aminoacil** o **tRNA** «cargado». Los tRNA cargados llevan aminoácidos al ribosoma y se unen a los surcos de los ribosomas en el sitio A. En el extremo opuesto de cada molécula de tRNA hay una secuencia de tres nucleótidos llamada **anticodón.** Diferentes aminoácidos tienen secuencias distintas de anticodón. Como aprenderás en breve, los anticodones están diseñados para unirse a pares de bases complementarias en los codones de mRNA. Ahora que conoces los «jugadores» de la traducción –mRNA, ribosomas y tRNA– examinaremos cómo se unen estos componentes para producir una proteína.

Etapas de la traducción

Existen algunas diferencias fundamentales entre la traducción en procariotas y eucariotas. Aquí ofrecemos una visión general de los aspectos básicos de las tres etapas principales de la traducción en eucariotas: iniciación, elongación, y terminación. El comienzo de la traducción se llama iniciación. Durante la iniciación, la subunidad ribosomal pequeña se une al extremo 5' de la molécula de mRNA mediante el reconocimiento de la caperuza 5' de los mRNA. Otras proteínas llamadas factores de iniciación también están involucradas en la orientación de la subunidad pequeña al mRNA. La subunidad pequeña se mueve a lo largo del mRNA hasta que encuentra el codón de inicio, AUG. Deteniéndose en el codón de inicio, la subunidad pequeña espera el tRNA correcto, llamado tRNA iniciador, para continuar (Figura 2.13). Este tRNA tiene el aminoácido metionina (met) unido a él (recuerda que la mayoría de proteínas comienzan con este aminoácido) y contiene el anticodón UAC. El anticodón UAC se une al codón de inicio por apareamiento de bases complementarias (Figura 2.13); entonces la subunidad ribosomal grande se une a este complejo que contiene a la subunidad pequeña, los factores de iniciación, el mRNA y el tRNA iniciador. Una vez que todos estos componentes estén en su lugar, el ribosoma puede empezar a traducir una proteína.

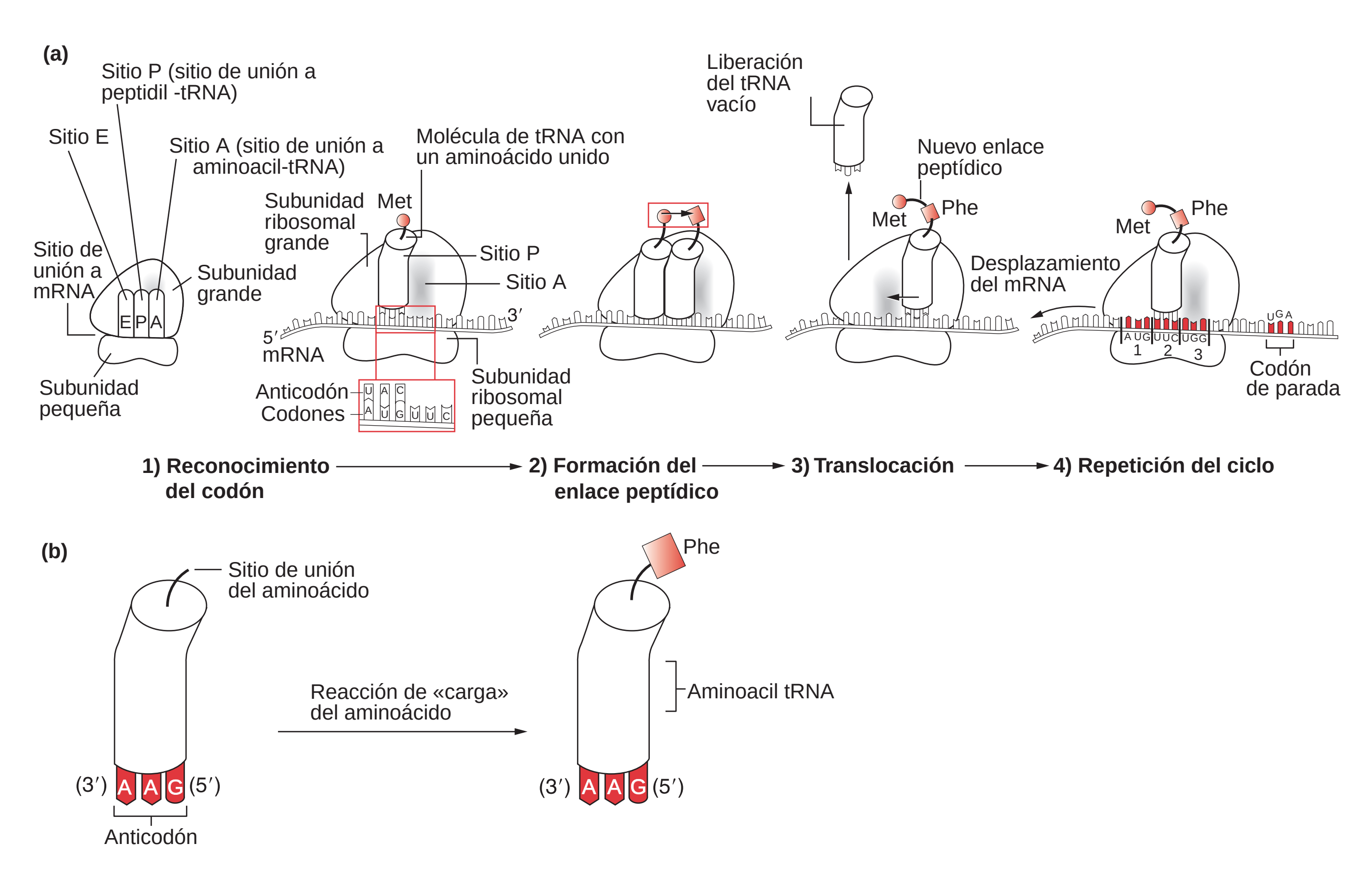


Figura 2.13 **Etapas de la síntesis de proteínas** (a) Los ribosomas contienen una subunidad grande y una pequeña. Aquí se muestra un ribosoma unido al mRNA. Los ribosomas contienen dos sitios de unión para las moléculas de tRNA, llamados sitio A y sitio P. En la figura, se muestran los pasos abreviados de la traducción del 1 al 4. (b) Se muestra un diagrama de tRNA, utilizado en este libro. En el extremo de cada tRNA hay un sitio de unión a un aminoácido y en el extremo opuesto hay una secuencia anticodón de tres nucleótidos.

El próximo ciclo de traducción se llama elongación debido a que durante esta fase más tRNA entran en el ribosoma, uno a uno, y una cadena creciente del polipéptido se va alargando. El ribosoma se detiene en el segundo codón, espera a que el (segundo) tRNA entre en el sitio A. En la Figura 2.13, observa que el segundo codón es UUC, que codifica para el aminoácido fenilalanina (phe). La phe-tRNA entra en el sitio A del ribosoma y el anticodón (AAG) aparea con el codón. Después de que se unan los dos tRNA a los ribosomas, una enzima en el ribosoma llamada **peptidil transferasa** cataliza la formación de un enlace peptídico entre los aminoácidos (unidos a sus tRNA). Los enlaces peptídicos unen aminoácidos para formar una cadena polipeptídica.

Después de que los aminoácidos se unan entre sí, el tRNA iniciador, sin metionina unida, hace una breve pausa en el sitio E y luego se libera del ribosoma. Los tRNA «vacíos» liberados son reciclados por la célula. Un nuevo aminoácido se une al tRNA, por lo que puede ser utilizado de nuevo para la traducción. El nuevo polipéptido en formación permanece unido al tRNA en el sitio A. Durante una fase llamada translocación, el ribosoma se desplaza de forma que el tRNA y la proteína creciente migran al sitio P del ribosoma. El tRNA con una cadena polipeptídica creciente unida se llama peptidil tRNA. El sitio A del ribosoma está alineado ahora con el tercer codón de la secuencia (UGG, que codifica para triptófano), y el ribosoma espera al aminoacil tRNA adecuado para entrar en el sitio A. El ciclo continúa tal como se describe para unir el siguiente aminoácido (triptófano) a la proteína creciente y se repite conforme el ribosoma se desplaza a lo largo del mRNA.

Se suceden diversos ciclos de elongación para formar una nueva proteína hasta que el ribosoma se encuentra con un codón de parada (por ejemplo, UGA). Esto indica la tercera fase de la traducción llamada *terminación.* Recuerda que los codones de parada no codifican para un aminoácido. Las proteínas llamadas factores de liberación interactúan con el codón de parada para terminar la traducción. Las subunidades del ribosoma se separan y liberan el mRNA, y la nueva proteína sintetizada es liberada en la célula. Los ribosomas se reciclan y, posteriormente, pueden unirse a cualquier otra molécula de mRNA (no sólo al mRNA de un gen en particular) e iniciar el proceso de traducción de nuevo.



TÚ DECIDES

Acceso a la biotecnología ¿Productos para todos?

Ahora que has estudiado cómo son los genes y cómo se utilizan para crear proteínas, en el Capítulo 3 aprenderás cómo pueden ser identificados, clonados y estudiados los genes. Uno de los beneficios de la clonación génica ha sido la identificación de los genes implicados en las enfermedades humanas. Como resultado, es posible hacer muchos productos génicos en el laboratorio y utilizarlos para fines médicos. Por ejemplo, cuando el gen de la insulina fue clonado en bacterias, fue posible producir grandes cantidades de insulina para el tratamiento de personas con diabetes. Del mismo modo, la clonación del gen de la hormona de crecimiento humana (hGH), que estimula el crecimiento de los huesos y músculos durante la infancia, proporcionó una fuente fácil para disponer de esta hormona. La hormona de crecimiento solamente se puede conseguir con receta médica, y se utiliza ampliamente y de manera efectiva para tratar ciertos casos en niños con baja estatura o enanismo. El uso ilegal de la hGH por los atletas profesionales ha recibido mucha atención en los últimos años. El enanismo se define generalmente como una enfermedad que resulta en una talla adulta de 1,27 metros o menos. La disponibilidad de la hormona de crecimiento y otros productos biotecnológicos plantea una cuestión ética. ¿Debería estar la hGH a disposición de todo el que quiera niños más altos o sólo de aquellos niños con enanismo? Supongamos que unos padres quisieran que su hijo de tamaño medio fuera más alto para poder tener más oportunidades de entrar en el equipo de baloncesto de la universidad? ¿Deberían estos padres poder dar a su hijo la hGH simplemente para mejorar su altura? Tú decides.

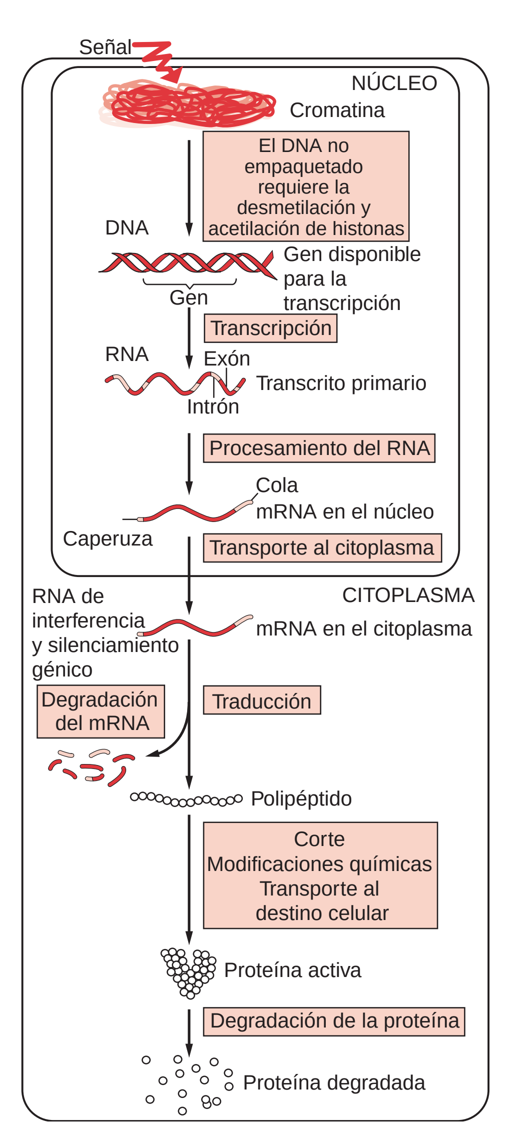


Figura 2.14 Niveles de regulación de la expresión génica Las células procariotas y eucariotas pueden regular la expresión génica de muy diversos modos. Esta figura resume las principales formas en que puede regularse la expresión génica en las células eucariotas. Ten en cuenta que la regulación de la expresión génica puede ocurrir a muchos «niveles» diferentes, comenzando por cómo se dobla la cromatina o por las modificaciones químicas que controlan la degradación o renovación de una proteína una vez que es sintetizada. La regulación de la transcripción es un mecanismo común de control utilizado en las células tanto procariotas como eucariotas.

Conceptos básicos del control de la expresión génica

Los biólogos utilizan el término de **expresión génica** para referirse a la producción de mRNA (y a veces de proteína) de una célula. Las células son extremadamente eficaces para controlar la expresión génica y la traducción para satisfacer sus necesidades. No todos los genes son transcritos y traducidos con la misma tasa en todas las células. Todas las células de un organismo contienen el mismo genoma, ¿cómo y por qué las células de la piel son diferentes de las células del cerebro o de las células del hígado? Diferentes tipos de células tienen diferentes propiedades y llevan a cabo diferentes funciones porque las células pueden *regular* o controlar los genes que expresan. En un momento dado de una célula, sólo algunos genes se «activan» o expresan para producir proteínas, mientras que muchos otros genes son silenciados o reprimidos. Estos genes sólo pueden ser expresados por las células en ciertos momentos, en respuesta a señales específicas de dentro o de fuera de la célula, para producir las proteínas necesarias. Estas señales pueden ser señales ambientales, como cambios de temperatura, nutrientes en el entorno externo, hormonas u otras señales químicas complejas intercambiadas por las células.

¿Cómo pueden los genes activarse y desactivarse en respuesta a diferentes señales? Los biólogos llaman a este proceso **regulación génica.** Las células procariotas y eucariotas regulan la expresión de genes en gran variedad de complejas formas (Figura 2.14). Un mecanismo común utilizado por ambos tipos de células se llama **regulación transcripcional,** que es el control de la cantidad de mRNA transcrito de un gen en particular como forma de

activar y desactivar genes. Aquí ofrecemos una introducción a la regulación transcripcional y examinamos ejemplos básicos de este proceso en eucariotas y procariotas.

Regulación transcripcional de la expresión génica

Debido a que la cantidad de proteína traducida por una célula está a menudo directamente relacionada con la cantidad de mRNA en la célula, las células pueden regular la cantidad de mRNA producido por cualquier gen determinado para controlar indirectamente la cantidad de proteínas que una célula produce. ¿Cómo saben las células qué genes activar y cuáles desactivar? Para comprender la regulación transcripcional tenemos que examinar el papel de las secuencias promotoras más de cerca.

Los promotores se encuentran *upstream* o corriente arriba de las secuencias génicas, lo que significa que se encuentran en el extremo 5′ de un gen. En procariotas y eucariotas, los genes no utilizan todos las mismas secuencias promotoras. En eucariotas, secuencias promotoras frecuentes *upstream* de muchos genes incluyen la **caja TATA** (TATAAAA), situada alrededor de 30 nucleótidos (–30) *upstream* del punto de inicio de un gen y la **caja CAAT** (GGCCAATCT) situada alrededor de 80 nucleótidos (–80) *upstream* de un gen (Figura 2.15).

Anteriormente en este capítulo, vimos cómo la RNA polimerasa iniciaba la transcripción al unirse a secuencias promotoras adyacentes a los genes. Para la mayoría de los genes eucariotas, la RNA polimerasa no puede reconocer correctamente y unirse a un promotor a menos que los factores de transcripción estén también presentes en el promotor. Los factores de transcripción del DNA son proteínas de unión que pueden ligarse a los promotores e interactuar con la RNA polimerasa para estimular la transcripción de un gen (Figura 2.15). En las células eucariotas y procariotas, factores de transcripción habituales interactúan con los promotores de muchos genes, sin embargo, ambos tipos de células también utilizan factores de transcripción específicos que sólo interactúan con ciertos promotores. La transcripción de algunos genes también depende de la unión de factores de transcripción específicos a las secuencias reguladoras adyacentes al promotor. Además, muchos genes que están estrictamente regulados por las células también contienen secuencias reguladoras llamadas **potenciadoras.**

Las secuencias potenciadoras se encuentran normalmente alrededor de 50 o más pares de bases *upstream* del promotor, pero también pueden estar ubicadas *downstream* de un gen. Las secuencias potenciadoras unen proteínas reguladoras, conocidas generalmente como activadoras. Las moléculas activadoras interactúan con los factores de trans-

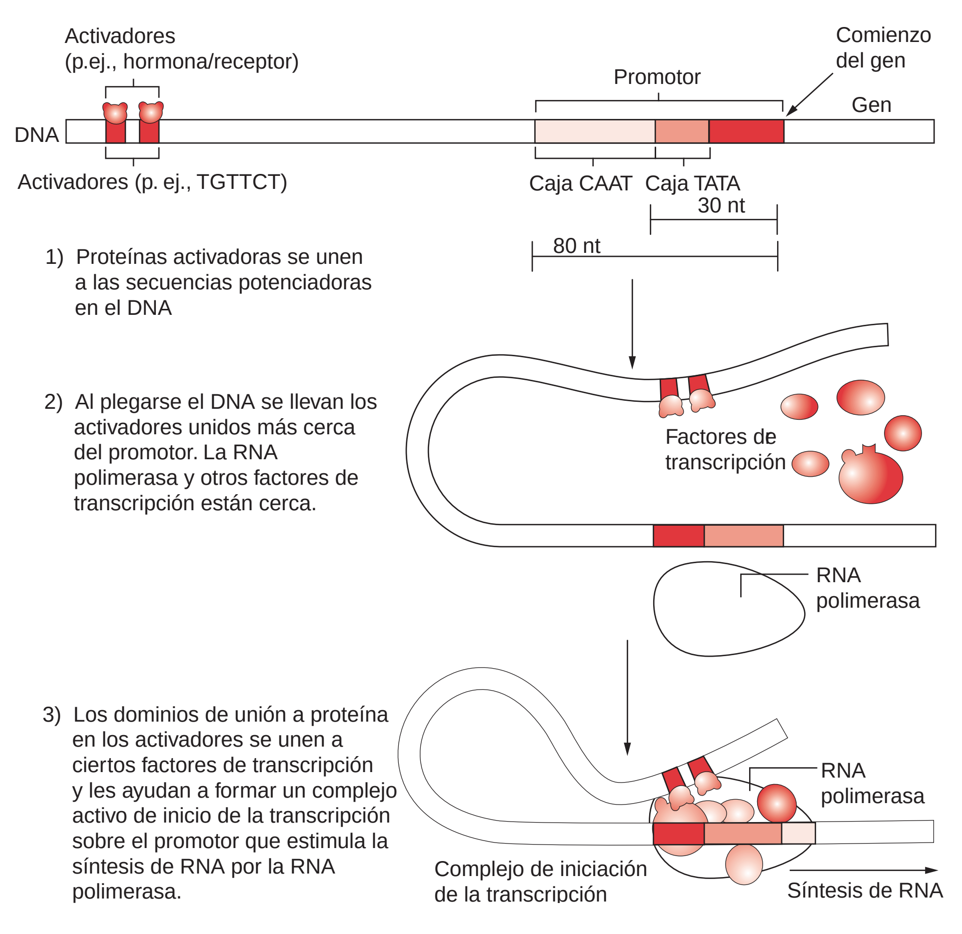


Figura 2.15 **Promotores, factores de transcripción y potenciadores**

cripción y con la RNA polimerasa formando un complejo que estimula (activa) la transcripción de un gen. Las células utilizan gran variedad de moléculas activadoras diferentes. Cada activador se une a una secuencia potenciadora en particular. Algunas moléculas activadoras pueden ser las hormonas. Por ejemplo, el esteroide masculino testosterona puede actuar como un activador para estimular la expresión génica. Seguro que sabes que la testosterona estimula las actividades celulares como el desarrollo muscular y el crecimiento del vello en los niños en desarrollo, pero ¿cómo funciona la testosterona? Esta hormona se une a una proteína receptora dentro de las células. El complejo proteico testosterona-receptor actúa como un activador para unirse a un elemento potenciador específico en el DNA llamado *elemento de respuesta a andrógeno* (5′-TGTTCT-3′). Estos elementos se encuentran generalmente cerca de un promotor. A su vez, la testosterona y su receptor estimulan la expresión génica. El esteroide femenino estrógeno funciona de manera similar.

Pero la testosterona y otros activadores no estimulan la expresión de todos los genes en todas las células. Los activadores actúan sólo en los genes que contienen secuencias potenciadoras a las que se pueden unir. Por ejemplo, la testosterona estimula la expresión de genes implicados en el crecimiento muscular y el crecimiento del vello porque estos genes contienen elementos de respuesta a andrógenos. La transcripción de otros genes sin elementos de respuesta a andrógenos no está directamente afectada por la hormona. Por cierto, el abuso de esteroides por culturistas y deportistas que buscan aumentar la masa y el tono muscular puede causar graves secuelas a largo plazo en parte debido a que los esteroides estimulan anormalmente la expresión génica durante períodos prolongados de tiempo.

Mediante los activadores y potenciadores, las células pueden utilizar el control de la transcripción para regular la expresión génica y controlar la actividad celular. Algunos genes contienen incluso secuencias represoras que disminuyen la transcripción. Debido a que células diferentes producen factores de transcripción y moléculas activadoras distintas, los genes se pueden activar en algunos tejidos y en otros no. Las células de la piel activan genes diferentes a las células musculares; así, cada tipo de célula produce diferentes proteínas y adquiere funciones distintas. En consecuencia, la expresión génica específica de tejidos y células, es una forma de que las células controlen las proteínas que expresan a pesar de contener todas las células del cuerpo el mismo genoma. Estos importantes mecanismos de control explican en parte por qué células diferentes tienen funciones diferentes.

Además, la identificación de los promotores, secuencias potenciadoras y factores de transcripción que se unen a estos segmentos de un gen es importante para muchos productos en biotecnología. Por ejemplo, la identificación de los factores de transcripción que estimulan la expresión de proteínas necesarias para el crecimiento óseo y el desarrollo, ayuda a los científicos a desarrollar nuevos medicamentos para estimular el crecimiento óseo en las personas que sufren diferentes tipos de artritis, cuando las células ya no producen factores que estimulan el crecimiento de los huesos.

Los factores de transcripción son una importante categoría de proteínas de unión a DNA

En la transcripción y en el control de la expresión génica pueden participar varios factores de transcripción. Algunos factores de transcripción se unen a los promotores de mayoría de los genes y generalmente son necesarios para que la RNA polimerasa comience la transcripción. Sin embargo, muchos factores de transcripción tienen cierto papel regulador en el control de la expresión de los genes descritos en la sección anterior. Estos factores de transcripción reguladores contienen regiones que les permiten unirse a secuencias específicas del DNA para controlar la expresión de ciertos genes. Estas regiones, llamadas **dominios de unión a DNA,** han formado reordenamientos estructurales de aminoácidos llamados **motivos** que interactúan directamente con el DNA.

Los factores de transcripción utilizan diferentes motivos de unión al DNA, y normalmente se unen al DNA acoplándose en el surco mayor de la molécula de DNA (Figura 2.16). Estos motivos se denominan según la forma de los aminoácidos que participan en la creación del motivo, que puede incluir alfa hélices y láminas beta (ver Figura 4.3 para revisar la estructura de las proteínas). Por ejemplo, la proteína reguladora represora *lac* se describe en la Figura 2.17 como un ejemplo de una hélice-giro-hélice que contiene proteínas.

Las bacterias usan operones para regular la expresión génica

Las bacterias son organismos muy importantes para muchas aplicaciones de la biotecnología, como la producción de proteínas humanas. En varias secciones de este libro, se analiza cómo la expresión génica en bacterias puede ser regulada para un objetivo en particular. Muchos de los estudios iniciales sobre regulación génica se llevaron a cabo en bacterias. Los científicos descubrieron que las bacterias utilizan gran variedad de mecanismos para regular la expresión génica. Las bacterias y otros microorganismos pueden y deben controlar rápidamente la expresión génica en respuesta a condiciones ambientales como los nutrientes, la temperatura y la intensidad de la luz. Un aspecto interesante de la expresión y regulación génica en bacterias es que muchos genes bacterianos están organizados en ciertos ordenamientos llamados **operones.** Los operones son esencialmente agrupaciones de varios genes relacionados, situados juntos y controlados por un promotor único. Los genes de un operón pueden ser regulados en respuesta a cambios dentro de la célula, y muchos genes que controlan el metabolismo de nutrientes se organizan en operones. Las bacterias pueden utilizar operones para regular de forma estricta la expresión génica en respuesta a sus necesidades de nu-

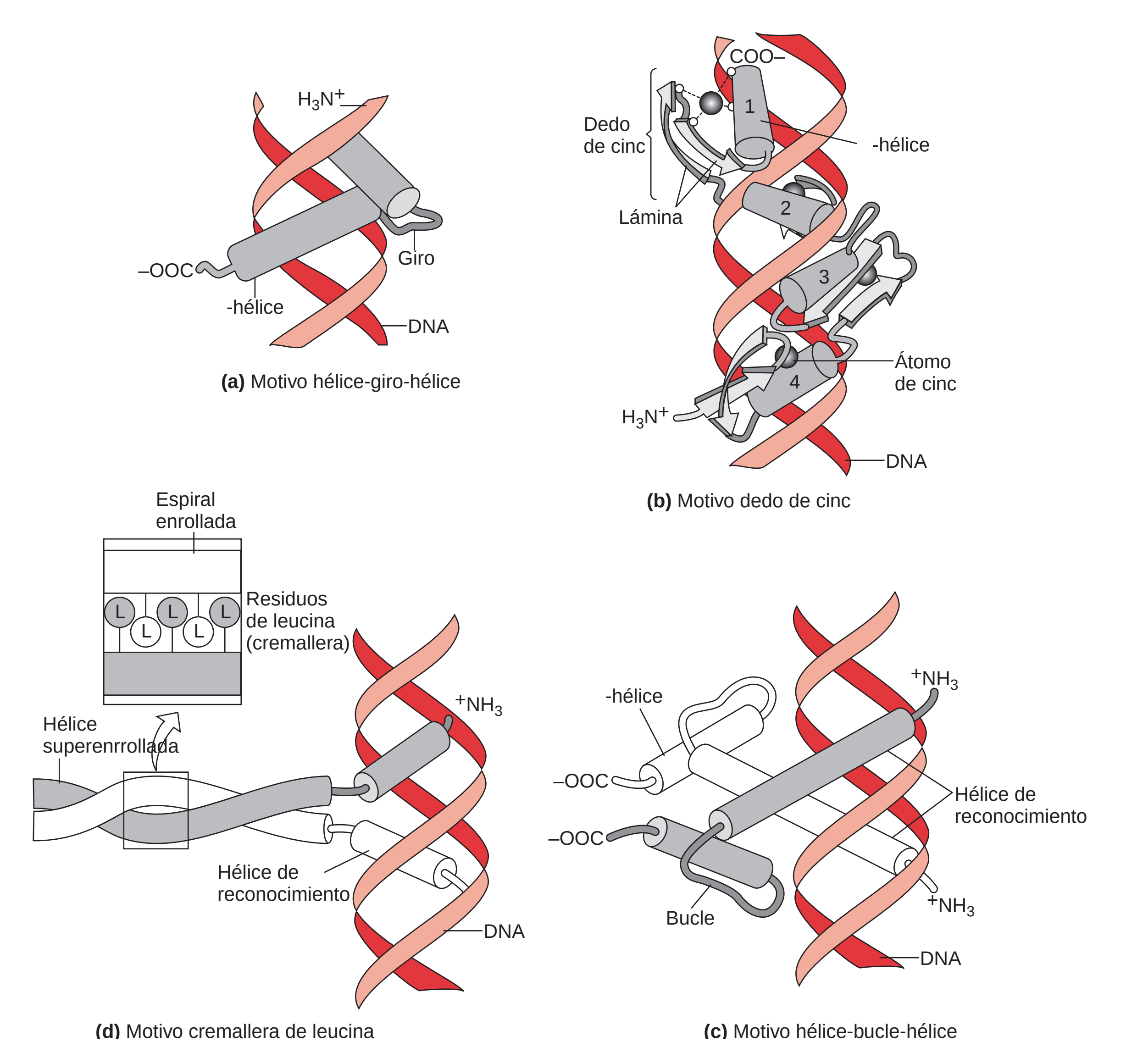


Figura 2.16 Motivos de unión al DNA en los factores de transcripción Aquí se muestran motivos comunes de unión al DNA en muchos factores de transcripción. (a) El motivo hélice-giro-hélice consta de α-hélices, unidas por un pequeño giro, con las hélices acopladas en los surcos principales del DNA. (b) Los motivos dedo de cinc implican grupos de dos cisteínas y dos histidinas que unen un átomo de cinc y los aminoácidos se pliegan en un lazo en forma de dedo que se une al DNA. (c) Los motivos de cremallera de leucina son disposiciones paralelas de leucinas unidas entre sí con hélices adyacentes que se unen al DNA. (d) Los motivos hélice-bucle-hélice tienen una hélice más corta conectada a una hélice más larga a través de un bucle de aminoácidos que las interconecta.

trientes. Aquí se presenta el análisis de un ejemplo clásico bien estudiado de regulación génica en bacterias, el **operón *lac*** (Figura 2.17).

El operón *lac* consta de los tres genes siguientes:

- *lacZ,* que codifica la enzima *ß-galactosidasa*
- *lacY,* que codifica la enzima *permeasa*
- *lacA,* que codifica la enzima *acetilasa*

Juntas, estas tres enzimas son necesarias para el transporte y la distribución de la lactosa en las células bacterianas. La lactosa, un azúcar presente en la leche, es una importante fuente de energía para muchas bacterias. Para metabolizar la lactosa, el azúcar debe ser transportado a las células por una permeasa y luego ser degradado en glucosa y galactosa por una ß-galactosidasa. La función de la acetilasa no está clara, aunque puede jugar un papel en la protección de las células contra los productos tóxicos de la degradación de la lactosa. El operón *lac* está regulado por una proteína llamada **represor *lac***, que es codificado por un gen independiente denominado gen *lacI.* Cuando las bacterias crecen en ausencia de lactosa, la proteína represora utiliza motivos hélice-giro-hélice para unirse a una secuencia en el promotor del operón *lac* (p) llamada **operador** (o). Mediante su unión con el

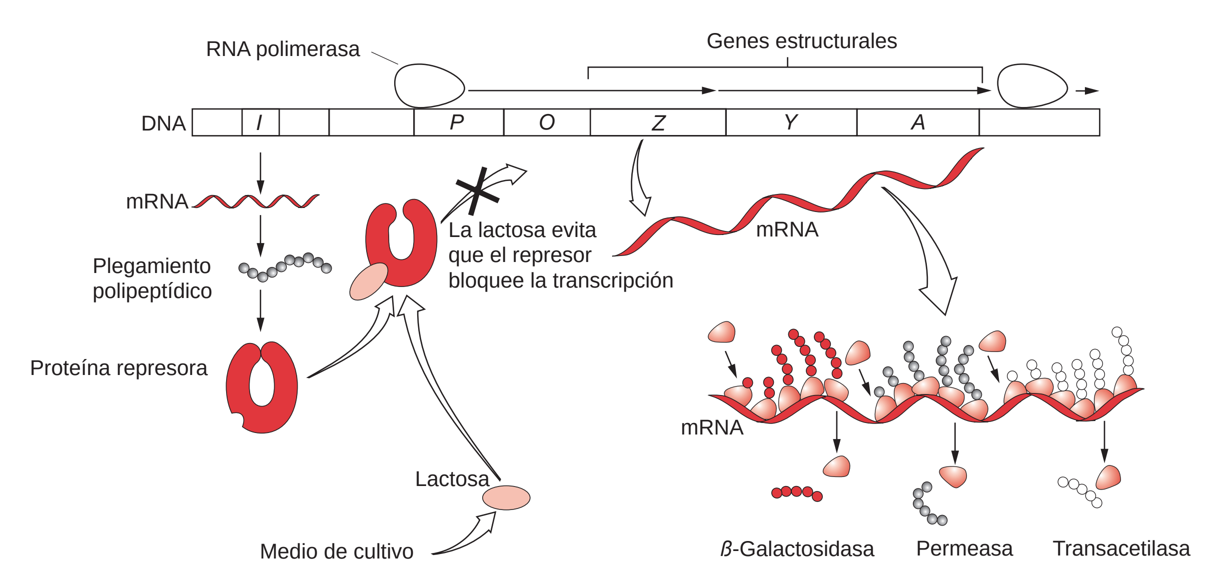


Figura 2.17 **El operón *lac*** Mediante el control del operón *lac,* las células bacterianas pueden regular la expresión génica en respuesta a la disponibilidad de lactosa. En ausencia de lactosa, el represor *lac* se une al operador bloqueando la transcripción del operón. En presencia de lactosa, ésta se une e inactiva al represor permitiendo que ocurra la transcripción del operón.

operador, el represor bloquea la unión de la RNA polimerasa al promotor y bloquea la transcripción de los genes *Z, Y* y *A* en el operón (Figura 2.17). Esta es una buena manera de que las bacterias controlen su metabolismo. ¿Por qué gastar energía transcribiendo genes y traduciendo proteínas, si no hay lactosa disponible para producir energía?

Por el contrario, en presencia de lactosa, el azúcar actúa como inductor de las moléculas que estimulan la transcripción del operón *lac*. La lactosa se une al represor *lac,* cambiando la forma de la proteína represora y evitando su unión al operador (Figura 2.17). Sin represor en esta conformación, la RNA polimerasa puede unirse al promotor *lac* y estimular la transcripción del operón. El mRNA transcrito del operón es traducido para producir las enzimas requeridas por la célula para metabolizar la lactosa.

MicroRNA «genes silenciadores», revelación de un reciente descubrimiento en la regulación de la expresión génica

En 1998, los científicos que estudiaban la lombriz intestinal *Caenorhabditis elegans* descubrieron pequeños segmentos (21 o 22 nt) de RNA no codificante de doble cadena llamados **RNA pequeños de interferencia (siRNA),** llamados así porque que se demostró que se unían al mRNA y, posteriormente, bloqueaban o interferían la traducción de los mRNA a los que se unía. Durante un tiempo se pensó que tal vez los siRNA estaban restringidos a *C. elegans,* pero mientras se buscaban siRNA en otras especies, los científicos descubrieron recientemente los microRNA (miRNA), que son otra categoría de moléculas de RNA pequeñas que no codifican proteínas. Se han identificado genes para miRNA en todos los organismos multicelulares estudiados hasta la fecha.

Al igual que los siRNA, los miRNA son moléculas reguladoras que regulan la expresión génica mediante el «silenciamiento» de la expresión génica a través del bloqueo de la traducción del mRNA o produciendo la degradación del mRNA. Los genes de los microRNA producen transcritos de RNA que son degradados por enzimas (Drosha y Dicer) en pequeños segmentos de cadena sencilla de 21 a 22 nucleótidos de tamaño (Figura 2.18). Los miRNA procesados se unen a un complejo de proteínas (denominado RISC), que les permite unirse a los mRNA complementarios a la secuencia de miRNA. La unión de miRNA a una secuencia de mRNA puede o bien bloquear la traducción en los ribosomas o desencadenar la degradación enzimática de un mRNA. Ambos mecanismos inhiben o silencian la expresión evitando que el mRNA se traduzca a proteínas.

Los mecanismos de silenciamiento génico basados en RNA se denominan **RNA de interferencia (RNAi).** La identificación de los genes humanos que son silenciados por los miRNA es actualmente un área muy activa de investigación. En los Capítulos 3 y 11, hablamos de cómo los científicos están trabajando en la explotación de RNAi como una prometedora forma de usar moléculas pequeñas de RNA para desactivar o silenciar selectivamente genes que participan en enfermedades humanas. Como prueba de lo valioso que es el RNAi como técnica de investigación, el Premio Nobel de Fisiología y Medicina de 2006 fue otorgado a Andrew Fire de la Universidad de Stanford, y Craig Mello de la Facultad de Medicina de la Universidad de Massachusetts, por su descubrimiento de este método para apagar genes.

Concluimos este capítulo con una breve exposición de cómo una mutación afecta a los genes.

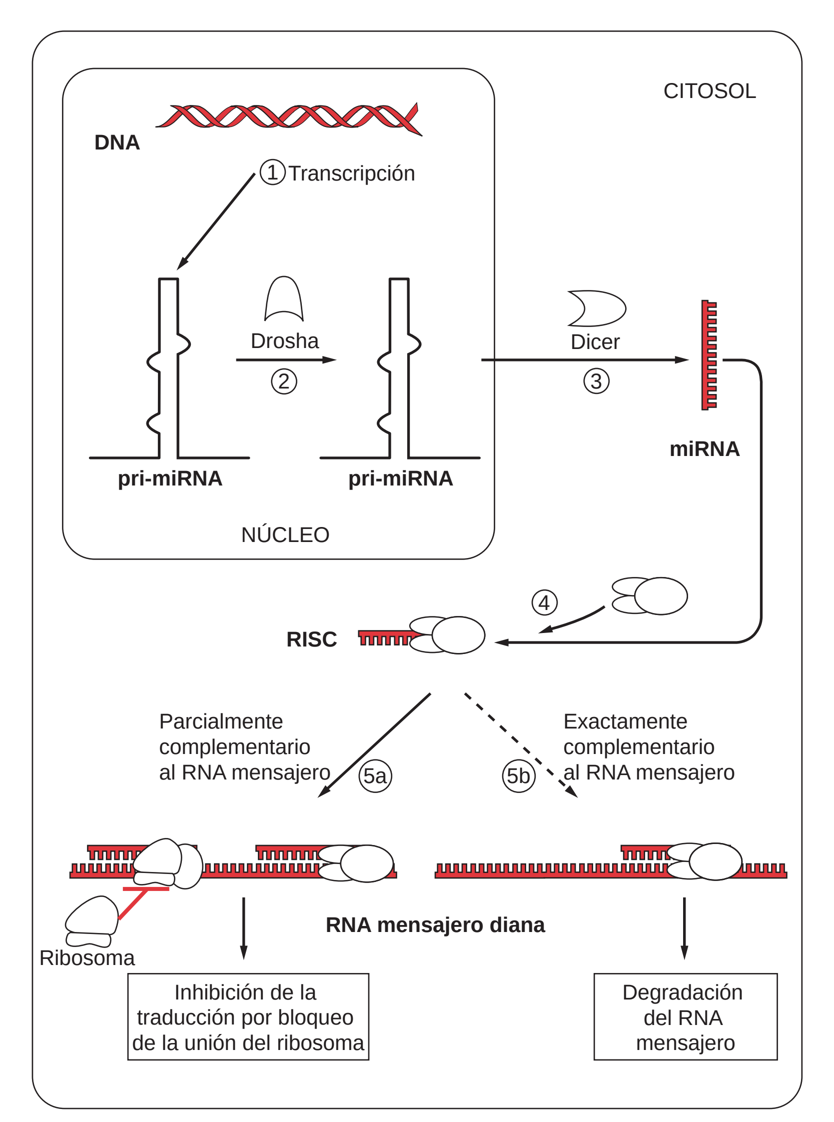


Figura 2.18 Silenciamiento de la expresión génica por microRNA El silenciamiento génico por miRNA es un proceso de varios pasos. (1) Los genes de microRNA transcriben un transcrito primario llamado pri-RNA (2) que se pliega en una horquilla similar a los patrones de plegamiento de las moléculas de tRNA. (3) La enzima Dicer corta los pri-mRNA en miRNA de cadena sencilla de 21 a 22 nucleótidos de largo. (4) Los microRNA se unen a un grupo de proteínas para formar un complejo ribonucleoproteico. (5) Este complejo de miRNA puede entonces unirse a las moléculas de mRNA por complementariedad de bases en secuencias que coinciden exactamente o se acercan a las secuencias complementarias entre el mRNA y el miRNA. (5a). El miRNA unido, silencia entonces la expresión génica mediante el bloqueo de la traducción o marcando el mRNA unido para su degradación por enzimas celulares.

2.5 Mutaciones: Causas y consecuencias

Una **mutación** es un cambio en la secuencia de nucleótidos del DNA. Las mutaciones son una causa importante de la diversidad genética. Por ejemplo, la base subyacente de la evolución de la especies para desarrollar y adquirir nuevas características se rige por las mutaciones de los genes en el tiempo. Las mutaciones también pueden ser perjudiciales. La mutación de un gen puede dar lugar a la producción de una proteína alterada que funciona mal o en algunos casos ya no codifica una proteína funcional. Estas mutaciones pueden causar enfermedades genéticas. En esta sección, ofrecemos una visión general de los diferentes tipos de mutaciones y sus consecuencias.

Tipos de mutaciones

Las mutaciones obedecen a causas muy diferentes. Algunas veces las mutaciones pueden tener lugar a través de eventos espontáneos tales como errores durante la replicación del DNA. Por ejemplo, la DNA polimerasa puede insertar el nucleótido equivocado en una nueva cadena de DNA sintetizado, por ejemplo, la inserción de una T cuando corresponde una C. A pesar de que en las células existen enzimas que trabajan para detectar y corregir errores, éstos ocurren de vez en cuando durante la replicación del DNA. Las mutaciones también pueden ser inducidas por causas ambientales. Por ejemplo, los productos químicos llamados **mutágenos,** muchos de los cuales imitan la estructura de los nucleótidos, se pueden introducir por error en el DNA y modificar la estructura del DNA. La exposición a los rayos X o la luz ultravioleta del sol también pueden mutar el DNA (¡los rayos del sol que disfrutas durante el verano no son tan saludables como piensas!).

Independientemente de cómo surgen las mutaciones, dependiendo del tipo de mutación, puede no haber ningún efecto sobre la producción de la proteína o puede cambiar totalmente la producción, la estructura y función de la proteína. Las mutaciones pueden implicar grandes cambios en la información genética o cambios de un solo nucleótido en un gen, como un cambio de una A por una C o una G por una T. Las mutaciones más co-

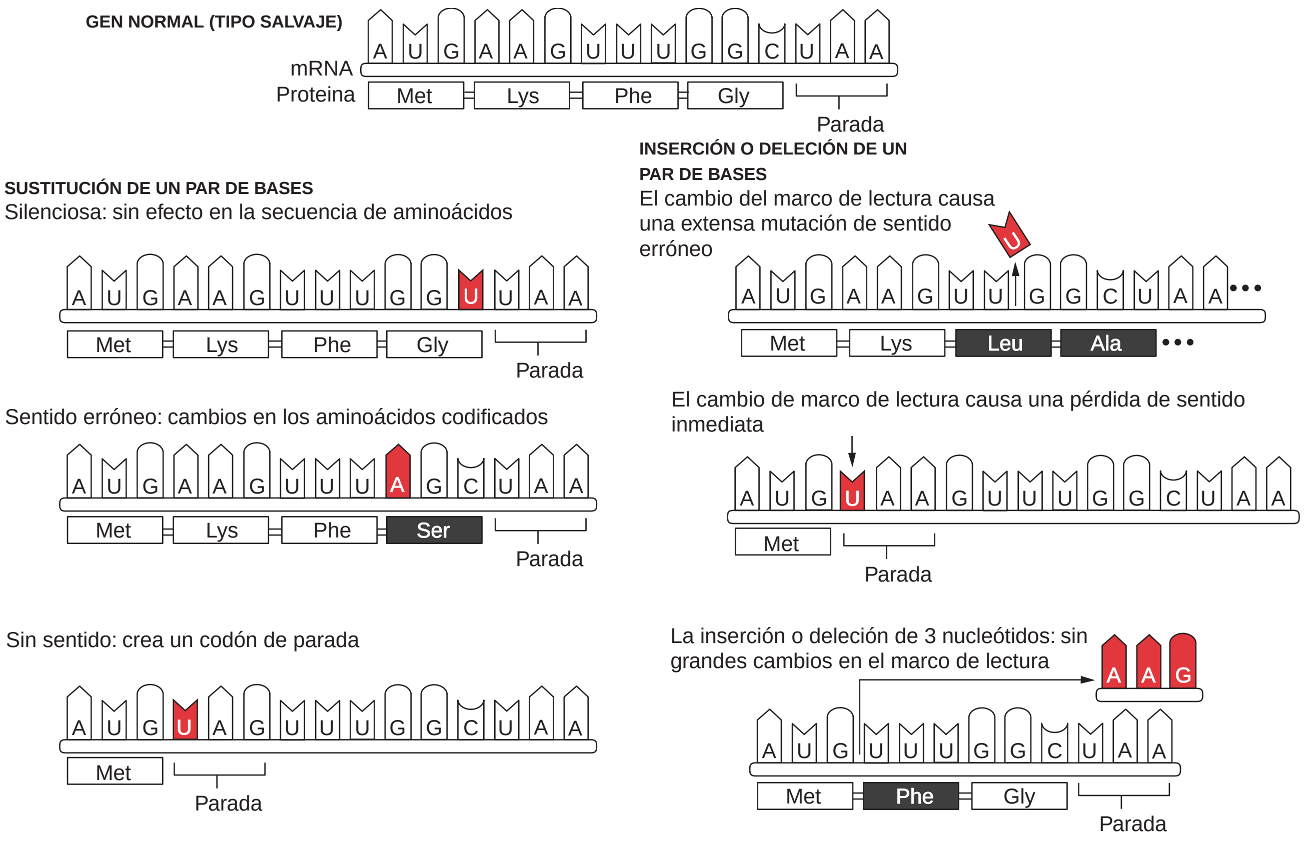
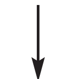


Figura 2.19 **Tipos de mutaciones** Las mutaciones pueden influir en el código genético del mRNA y en las proteínas resultantes traducidas a partir de un gen. Aquí se muestra un segmento del mRNA copiado de un gen, pero las mutaciones ocurren generalmente dentro del DNA. Las mutaciones en un gen pueden tener diferentes consecuencias en la proteína traducida.

munes en el genoma son los cambios de un solo nucleótido (o de unos pocos nucleótidos) llamados **mutaciones puntuales.** Las mutaciones puntuales a menudo implican sustituciones de pares de bases, en las que un par de bases se sustituye por otro par de bases diferente; inserciones, en las que un nucleótido se inserta en una secuencia génica, o supresiones, la eliminación de un par de bases (Figura 2.19).

Las mutaciones, en última instancia, ejercen sus efectos en una célula, cambiando las propiedades de una proteína, que a su vez, puede afectar a los rasgos.

Una mutación genética puede causar:



Cambios en la estructura y función de las proteínas, la síntesis de una proteína no funcional o la no síntesis de proteína puede conducir a:



Las proteínas son moléculas grandes y complejas. Para funcionar correctamente, la mayoría de las proteínas deben plegarse en formas tridimensionales complejas. El cambio de uno o dos aminoácidos en una proteína puede alterar la forma general de la proteína, alterando en gran medida su función o en algunos casos, evitando el funcionamiento total de la proteína. Las mutaciones pueden no tener ningún efecto en una proteína, si la mutación cambia la secuencia de un codón a otro codón que codifica para el mismo aminoácido (Figura 2.19). Estas se consideran **mutaciones silenciosas** porque no tienen ningún efecto sobre la estructura y la función de la proteína. Del mismo modo, una mutación puede cambiar un codón de forma que se codifique un aminoácido diferente. Estas **mutaciones de sentido erróneo** también se consideran «silenciosas» si el nuevo aminoácido codificado no cambia la estructura y función de la proteína. Sin embargo, si el nuevo aminoácido codificado modifica la estructura de la proteína, entonces su función puede cambiar de manera significativa. Posteriormente, consideraremos un ejemplo dramático de cómo una mutación de un solo nucleótido es responsable de la enfermedad genética humana llamada anemia falciforme.

En ocasiones, mutaciones llamadas **mutaciones sin sentido** cambian el codón para un aminoácido en un

codón de parada, que hace que una proteína acorte anormalmente su traducción, por lo general dando lugar a una proteína no funcional. Inserciones o deleciones pueden también afectar de manera drástica la proteína producida a partir de un gen mediante la creación de **«cambios en el marco de lectura»**. Como se muestra en la Figura 2.19, la inserción de un nucleótido (U en este ejemplo) hace que el marco de lectura de los codones se desplace a la derecha de la inserción, cambiando la proteína codificada por el mRNA. Los cambios en los marcos de lectura crean a menudo proteínas no funcionales.

Las mutaciones pueden ser heredadas o adquiridas

Es importante darse cuenta de que no todas las mutaciones tienen el mismo efecto en las células del cuerpo. Los efectos de una mutación dependen no sólo del tipo de mutación que se produce sino también del tipo de célula en la que se produce una mutación. Las mutaciones genéticas pueden ser heredadas o adquiridas. Las **mutaciones heredadas** son mutaciones que pasan a la descendencia a través de los gametos-espermatozoides o los óvulos. Como resultado, la mutación está presente en el genoma de todas las células de la progenie. Las mutaciones heredadas pueden causar defectos de nacimiento o enfermedades genéticas hereditarias. A lo largo de este libro se estudiarán una serie de enfermedades genéticas hereditarias diferentes.

Las **mutaciones adquiridas** se producen en el genoma de las células somáticas (recuerda que incluyen todos los demás tipos de células a excepción de los gametos) y no se transmiten a la descendencia. Aunque no se heredan, las mutaciones adquiridas pueden causar anomalías en el crecimiento de la célula que conduce a la formación de tumores cancerosos trastornos metabólicos, y otras enfermedades. Por ejemplo, la exposición prolongada a la luz ultravioleta puede causar mutaciones adquiridas en las células de la piel que causan al cáncer de piel. El entendimiento de la base genética del cáncer y muchas otras enfermedades humanas es una importante área de investigación en biotecnología.



PERFIL PROFESIONAL

Carreras en Genómica

Es un momento muy emocionante para considerar una carrera en genómica. Nunca antes había habido más oportunidades o una variedad más amplia de opciones laborales en este campo. Además de estudiar el genoma humano, los científicos están involucrados de forma muy activa en el estudio del genoma de muchas otras especies, incluyendo organismos modelo como ratones, moscas de la fruta, pez cebra, importantes cultivos agrícolas, plagas, microbios que causan enfermedades y organismos marinos. Debido a la enorme cantidad de información sobre genómica, serán necesarias décadas de trabajo para estudiar qué hacen los diferentes genes. Descifrar los secretos contenidos en los genomas requerirá el esfuerzo conjunto de muchas personas.

Una publicación reciente del Instituto Nacional de Salud (*Genetic Basics,* NIH Publication No. 01-662, www.nigms.nih.gov) afirmó que los avisos de «Se necesita ayuda» están por todo el mundo para reclutar a miles y miles de cerebros humanos para contribuir al estudio de la genómica. Las oportunidades laborales en la investigación genómica se dividen en cuatro categorías principales: científicos de laboratorio, médicos, consejeros genéticos y expertos bioinformáticos. Los científicos del laboratorio se llaman científicos de bata porque llevan a cabo experimentos en el laboratorio cada día. Los científicos del laboratorio llevan a cabo los experimentos para descubrir y clonar genes y estudiar sus funciones. En los laboratorios científicos existen oportunidades a niveles más básicos como técnico de laboratorio para aquellos con títulos de asociados y grados de licenciatura, y puestos de mayor nivel científico, como puestos de director de laboratorio, que requieren un máster o un doctorado. Los médicos están capacitados para realizar una investigación e interactuar con los pacientes como parte de los equipos de investigación. Los médicos pueden trabajar en la investigación para tratar pacientes con nuevos tratamientos genéticos tales como los protocolos de terapia génica. Los médicos también son importantes porque la genómica está teniendo y tendrá profundos efectos en la medicina y el tratamiento de las enfermedades humanas. Los asesores genéticos ayudan a la gente a entender la información genómica, por ejemplo cómo afectan los genes a la susceptibilidad a padecer una enfermedad. Los puestos de asesor por lo general, requieren un máster con formación en psicología, biología y genética.

La bioinformática es una disciplina que combina la biología con la informática. La bioinformática implica almacenar, analizar y compartir datos de genes y proteínas. La enorme cantidad de datos de secuencias de DNA que son generados por los proyectos genoma ha hecho de la bioinformática un área en expansión que es absolutamente esencial para la genómica. Los bioinformáticos, en general, tienen una sólida formación tanto en biología como en informática y trabajan junto con los científicos de bata para analizar los datos del genoma. La mayoría de los puestos en bioinformática requieren una licenciatura en ciencias, un máster o un doctorado.

Visita la página de Información del Proyecto del Genoma Humano «Información en Mantenerse al Día»: Enlaces en la web adjunta para consultar las posibilidades laborales en genética que también incluye enlaces a muchos otros valiosos recursos.

Las mutaciones son la base de la variación en los genomas y una causa de enfermedades genéticas humanas

Las mutaciones constituyen la base molecular de muchas enfermedades genéticas. La anemia falciforme fue la primera enfermedad genética descubierta cuya causa se atribuyó a una mutación en particular (Figura 2.20). La anemia falciforme es producida por un cambio en un único nucleótido, por la sustitución de un par de bases en el gen que codifica para uno de los polipéptidos de la proteína **hemoglobina,** la proteína que transporta el oxígeno en los glóbulos rojos. Los glóbulos rojos contienen millones de moléculas de hemoglobina, cada una de las cuales está formada por cuatro cadenas polipeptídicas (Figura 2.20). Una mutación puntual en este gen, llamado técnicamente gen de la ß-globina, cambia el código genético de modo que el gen codifica para un aminoácido diferente en la posición 6 de uno de los polipéptidos de la hemoglobina.

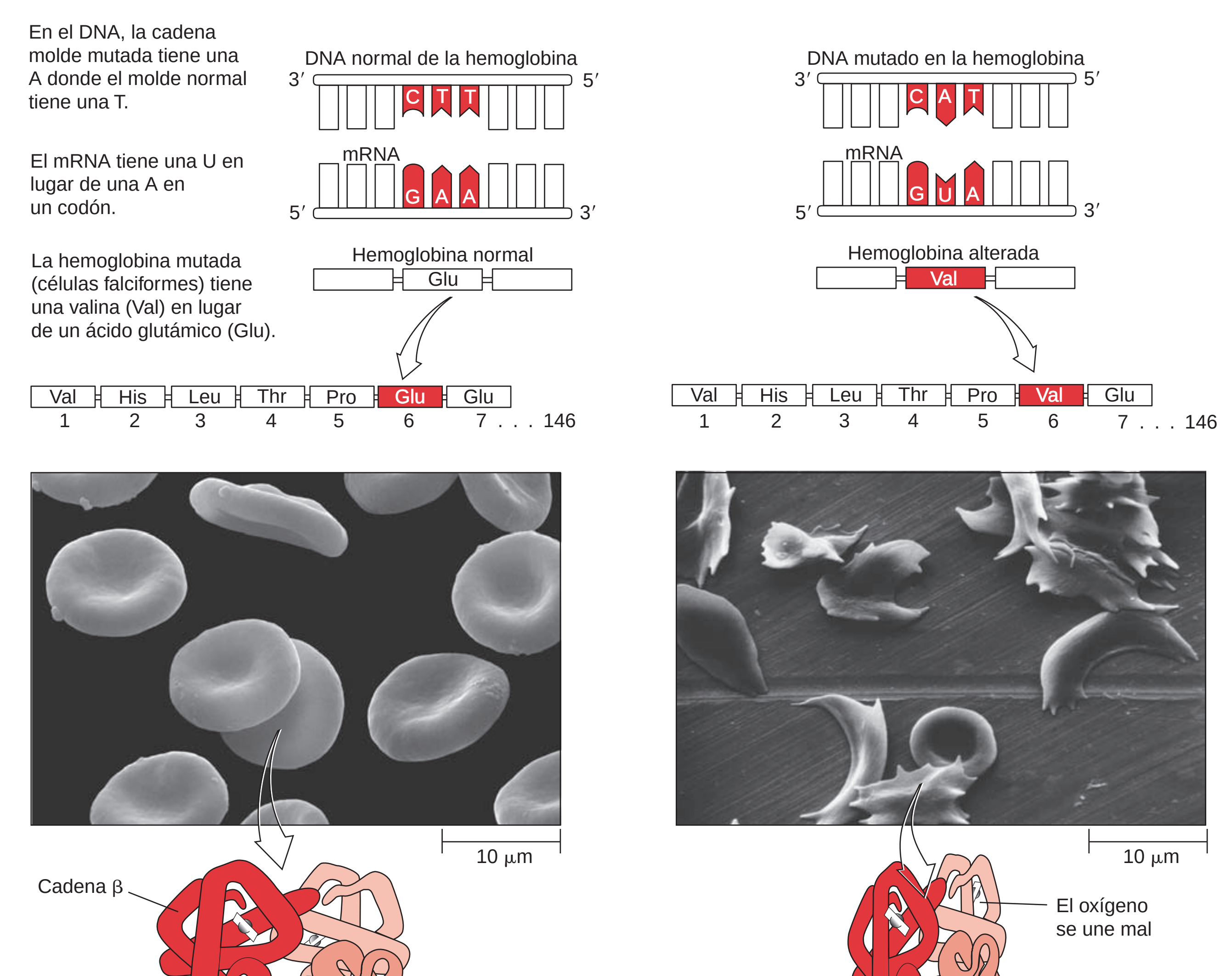


Figura 2.20 Bases moleculares de la anemia falciforme (a) La hemoglobina, proteína de unión al oxígeno de los glóbulos rojos, se compone de cuatro cadenas de polipéptidos. Aquí se muestra una parte del gen normal de la hemoglobina junto con su mRNA transcrito y los siete primeros aminoácidos de uno de los polipéptidos de la hemoglobina, que contiene un total de 146 aminoácidos. (b) El gen defectuoso que causa la anemia falciforme contiene un cambio en un solo par de bases de su secuencia, que altera la hemoglobina traducida. Este sutil cambio altera la forma de los glóbulos rojos de la sangre causando su deformación. Las células falciformes son frágiles, pueden agruparse y bloquear los vasos sanguíneos, y no realizan el transporte de oxígeno correctamente.

Como resultado, el aminoácido valina se inserta en la hemoglobina de las células falciformes en lugar del ácido glutámico. Los individuos con dos copias defectuosas del gen de la hemoglobina sufren los efectos de la anemia falciforme. Esta sutil mutación altera la capacidad de transporte de oxígeno de la hemoglobina y cambia totalmente la forma normal de los glóbulos rojos de la sangre, adquiriendo una forma en curva anormal. Las células falciformes bloquean los vasos sanguíneos, y los pacientes sufren un mal aporte de oxígeno a los tejidos, causando dolor en las articulaciones y otros síntomas. La anemia de células falciformes es uno de los trastornos genéticos heredados mejor comprendidos.

En el Capítulo 3 exploraremos cómo los científicos que trabajan en el Proyecto del Genoma Humano han identificado y están analizando los cerca de 3 mil millones de pares de bases que forman DNA humano.

Conforme los científicos han aprendido más sobre el genoma humano, han descubierto que las secuencias de DNA de personas de diferentes culturas de todo el mundo son muy similares. Independientemente de su etnia, los genomas humanos son aproximadamente un 99,9 por ciento idénticos. En otras palabras, tienes cerca de un 99,9 por ciento de tus secuencias de DNA como las del Presidente George W. Bush, Shaquille O'Neal, Britney Spears, Saddam Hussein, Michael Jackson-o casi cualquier otro humano.

Pero debido a que hay diferencias de 0,1 por ciento entre los DNA de los individuos, o alrededor de una base de cada mil, esto significa que hay aproximadamente 3 millones de diferencias entre individuos distintos. Muchas de estas variaciones son creadas por una mutación, y la mayoría de ellas no tienen efectos evidentes, sin embargo, otras mutaciones influyen fuertemente en las funciones celulares, el comportamiento y la susceptibilidad a enfermedades genéticas. Estas variaciones son importantes y son la base de las diferencias en todos los rasgos heredados entre las personas, desde la altura y el color de los ojos hasta la personalidad, la inteligencia y la esperanza de vida.

La mayoría de la variación genética entre los genomas humanos se debe a las sustituciones de nucleótidos individuales llamados **polimorfismos de nucleótido simple (SNP).** Por ejemplo, en una secuencia particular, en una cierta base de una región determinada de la secuencia de DNA del presidente Bush se puede leer «A», en la secuencia de Shaquille O'Neal se lee «T», en la secuencia de Britney Spears se puede leer «C», y en el mismo sitio de tu secuencia se puede leer «G.» La mayoría de SNP son inofensivos, ya que se producen en las regiones intrón del DNA, sin embargo, cuando se producen en los exones, pueden afectan a la estructura y función de una proteína, que pueden influir en la función celular y provocar una enfermedad. La anemia falciforme se debe a un SNP. Consulta la Figura 1.11, que muestra una comparación de una secuencia génica de tres personas diferentes. Un SNP en este gen en la persona 2 puede no tener ningún efecto sobre la estructura y función de la proteína si es una mutación silenciosa. Otros SNP (persona 3) causan enfermedad si cambian la estructura y función de la proteína.

En el Capítulo 11, se consideran diversas enfermedades genéticas, se discute cómo se pueden detectar los genes defectuosos, y se examina cómo los científicos están trabajando en terapias génicas para curar estas enfermedades (Figura 2.21).



Figura 2.21 La biotecnología se utiliza para detectar y corregir mutaciones

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. Compara y contrasta los genes y cromosomas, y describe sus funciones en la célula.
2. Si la secuencia de una cadena de una molécula de DNA es 5'-AGCCCCGACTCTATTC-3', ¿cuál es la la secuencia de la cadena complementaria?
3. ¿Qué significa la frase «la expresión génica»?
4. Supongamos que identificas una nueva cepa de una bacteria. Si el contenido de DNA de las células de este organismo es del 13 por ciento de adenina, ¿qué porcentaje aproximadamente del genoma de este organismo se compone de guanina? Explica tu respuesta.
5. Indica por lo menos tres diferencias importantes entre el DNA y el RNA.
6. Considera la siguiente secuencia de mRNA: 5'-AGCACCAUGCCCCGAACCUCAAAGUGAAACAAAAA-3'. ¿Cuántos codones están incluidos en este mRNA? ¿Cuántos aminoácidos son codificados por esta secuencia? Utiliza la Tabla 2.3 para determinar la secuencia de aminoácidos codificada por este mRNA.

Nota: Recuerda que las moléculas de mRNA son en realidad mucho mayores que la pequeña secuencia que se muestra aquí.

7. Considera la siguiente secuencia de DNA: 5'-TTTATGGG TTGGCCCGGGTCATGATT-3'

3'-AAATACCCAACCGGGCCCAGT ACTAA-5

a. Transcribe cada una de estas secuencias a mRNA. ¿Qué secuencia de DNA (superior o inferior) produce un mRNA funcional que contiene un codón de inicio? ¿Cuál es la secuencia de aminoácidos del polipéptido producido a partir de este mRNA?

b. Para la cadena de DNA que produce un mRNA funcional, numera cada base de izquierda a derecha numerando la primera base con el número «1». Inserta una «T» entre las bases 10 y 11, que represente una mutación de inserción. Transcribe un mRNA de esta nueva cadena y tradúcelo en una proteína. Compara la secuencia de aminoácidos de esta proteína con la que se traduce en (a). ¿Qué pasó? Explícalo.

8. Nombra los tres tipos de RNA que participan en la síntesis de proteínas y describe la función de cada uno.

9. ¿Qué es la regulación de la expresión génica? ¿Por qué es importante?

10. Haz un diagrama del proceso de replicación semiconservativa del DNA mediante la elaboración de una horquilla de replicación e indica las enzimas, proteínas y otros componentes importantes involucrados en este proceso. Describe en una sola frase la función de cada componente.

11. ¿Por qué algunas mutaciones afectan a la estructura y función de las proteínas pudiendo producir una enfermedad mientras que otras mutaciones no tienen efectos significativos sobre la estructura y función de las proteínas?

12. En un nucleótido del DNA, ¿qué carbono del azúcar desoxirribosa se une a la base nitrogenada?

Bibliografía y lecturas complementarias

Ast, G. (2005). Altetrnaive Genome. *Scientific American,* 292: 58–65.

Becker, W. M., Kleinsmith, L. J., y Hardin, J. (2006). *El mundo de la célula,* 6/e. Madrid: Pearson Educación.

Dennis, C., and Gallagher, R., eds. (2001). *The Human Genome.* New York: Palgrave.

Gibbs, W. W. (2003). The Unseen Genome: Gems Among the Junk. *Scientific American,* 289: 46–53.

Mattick, J. S. (2004). The Hidden Genetic Program of Complex Organisms. *Scientific American,* 291: 60–67.

Ridley, M. (2000). *Genome: The Autobiography of a Species in 23 Chapters.* New York: HarperCollins.

Watson, J. D., Baker, T. A., Bell, S. P., Gann, A., Levine, M., and Losick, R. (2004). *Molecular Biology of the Gene,* 5/e. San Francisco: Benjamin Cummings.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo 3

Tecnología del DNA recombinante y genómica

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Definir lo que es la tecnología del DNA recombinante y explicar cómo se utiliza para clonar y manipular genes.
- Comparar y contrastar distintos tipos de vectores; describir sus características prácticas y sus aplicaciones en biología molecular.
- Comprender cómo se construyen las bibliotecas de DNA y cómo se rastrea para clonar un gen de interés.
- Describir cómo se pueden utilizar la electroforesis en gel de agarosa, el mapeo con enzimas de restricción y la secuenciación del DNA para estudiar la estructura de los genes.
- Explicar las técnicas comunes utilizadas para estudiar la expresión génica.
- Estar familiarizado con la ribointerferencia o el RNA de interferencia (RNAi) como una nueva técnica muy poderosa para silenciar la expresión génica.
- Entender las potenciales consecuencias científicas y médicas del Proyecto del Genoma Humano y razonar sobre sus aspectos éticos, legales y sociales.
- Definir la genómica y la bioinformática y explicar por qué estas disciplinas son grandes áreas del conocimiento en rápido desarrollo.



Estudiantes de grado de biología trabajando en un experimento sobre DNA recombinante.

Como hemos visto en el Capítulo 1, la biotecnología no es una ciencia nueva. El hombre ha realizado prácticas de mejora de cultivos y del ganado desde hace mucho tiempo y hemos utilizado microbios para crear alimentos y bebidas mediante la fermentación desde hace siglos. Sin embargo, la moderna era de la biotecnología comenzó cuando se desarrollaron las técnicas de clonación del DNA. Empezando en la década de los setenta del siglo xx y continuando durante las tres décadas siguientes, las técnicas de laboratorio sobre **tecnología de DNA recombinante e ingeniería genética,** sorprendentes y de rápido desarrollo, han cambiado para siempre la biología molecular, la ciencia básica y la investigación médica. En este capítulo se presenta una visión general de la historia de la manipulación genética y se tratan los descubrimientos principales de la tecnología del DNA recombinante que han revolucionado muchas áreas de la ciencia y de la medicina. Posteriormente se revisa la sorprendente variedad de técnicas modernas a disposición de los científicos para la clonación de genes y para el estudio de la estructura y función de los genes. El capítulo termina con una introducción a la bioinformática, un campo relativamente nuevo con mucho potencial.

3.1 Introducción a la tecnología del DNA recombinante y a la clonación del DNA

Cuando los científicos James Watson y Francis Crick descubrieron que la estructura del DNA es una molécula formada por una doble hélice, se dieron cuenta de la importancia potencial y del impacto de este descubrimiento. Sin embargo, ni siquiera estos dos ganadores del Premio Nobel podrían haber imaginado el espectacular ritmo al que la biología molecular iba a avanzar durante el siguiente medio siglo.

Como se ha explicado en el Capítulo 2, en los años anteriores y posteriores al descubrimiento de Watson y Crick, otros muchos científicos contribuyeron a nuestra moderna comprensión del DNA como el material genético de las células vivas. Un grupo de investigadores estudió la estructura del DNA y su replicación en bacterias y en **bacteriófagos.** Los bacteriófagos, a menudo simplemente denominados *fagos,* son virus que infectan las células bacterianas. Gran parte de lo que conocemos sobre la replicación del DNA y sobre las enzimas que sintetizan DNA se ha aprendido mediante el estudio de las bacterias y los fagos. Por ejemplo, una enzima clave en la replicación del DNA se denomina DNA ligasa. Recuérdese del Capítulo 2 que la ligasa une fragmentos adyacentes de DNA (fragmentos de Okazaki) durante la replicación del DNA. La DNA ligasa es una enzima importante en la tecnología del DNA recombinante.

Bacterias como la *Escherichia coli,* que están presentes de manera natural en los intestinos de los animales, incluyendo a los humanos, han desempeñado un papel importante como **organismos modelo** para los estudios de genética y biología molecular. *E. coli* sigue siendo un organismo favorito para muchos experimentos de laboratorio de biotecnología. Las importantes funciones de las bacterias y de los virus en biotecnología y las aplicaciones de la biotecnología microbiana se tratan con más detalle en el Capítulo 5.

A finales de la década de los sesenta, muchos científicos estaban interesados en la clonación de genes y especularon que sería posible clonar DNA cortando y pegando DNA de diferentes orígenes (la tecnología del DNA recombinante). En cuanto comiences a saber más sobre biotecnología, te parecerá que *clonación de genes, tecnología del DNA recombinante e ingeniería genética* describen el mismo proceso. En realidad, estas técnicas son metodologías ligeramente diferentes que están interrelacionadas. Como verás en este capítulo, la tecnología del DNA recombinante se utiliza normalmente para hacer posible la clonación de genes, mientras que la ingeniería genética a menudo se basa en la tecnología del DNA recombinante y en la clonación de genes para modificar el genoma de un organismo. Sin embargo, los términos *tecnología del DNA recombinante e ingeniería genética* se utilizan frecuentemente como sinónimos. La palabra *clon* deriva de un término griego que hace referencia a un corte (a un esqueje) que se utiliza para propagar o copiar una planta. Una definición biológica moderna de un clon es una molécula, célula u organismo que ha sido producido a partir de otra entidad única. Las técnicas de laboratorio necesarias para la clonación de genes que se describen en este capítulo son distintas de las técnicas utilizadas para clonar organismos completos como la oveja Dolly. La clonación de organismos se trata en el Capítulo 7.

Enzimas de restricción y plásmidos o vectores de DNA

A comienzos de los setenta la clonación de genes se convirtió en una realidad. Muchos descubrimientos casi simultáneos y esfuerzos cooperativos entre muchos investigadores condujeron al descubrimiento de dos componentes esenciales que hicieron posibles las técnicas de clonación de genes y del DNA recombinante: las **enzimas de restricción** y el **plásmido de DNA.** Las enzimas de restricción son enzimas cortadoras de DNA y el plásmido de DNA es una forma circular de DNA autorreplicante que los científicos pueden manipular para transportar y clonar otros trozos de DNA.

Los microbiólogos de la década de los sesenta descubrieron que algunas bacterias eran resistentes a los bacteriófagos porque podían *limitar* la replicación de los fagos. El científico suizo Werner Arber propuso que el crecimiento limitado de los fagos se producía porque algunas bacterias contenían enzimas que podían cortar el DNA de los virus en trozos pequeños, evitando así la replicación viral. Debido a esta capacidad se denominó a estas enzimas *enzimas de restricción.* Las bacterias no tienen sistemas inmunitarios para eludir a los fagos, sino que las enzimas de restricción proporcionan un tipo de mecanismo de protección para algunas bacterias.

En 1970, trabajando con bacterias *Haemophilus influenzae,* el investigador Hamilton Smith, de la Universidad Johns Hopkins, aisló *Hind*III, la primera enzima de restricción que pudo ser bien descrita y utilizada para la clonación del DNA. Las enzimas de restricción se denominan también endonucleasas de restricción (*endo* = «dentro de», *nucleasa* = «enzima cortadora de ácido nucleico») ya que cortan *dentro de* las secuencias de DNA en oposición a las enzimas que cortan a partir de los extremos de las secuencias de DNA (exonucleasas). Smith demostró que *Hind*III se podría utilizar para cortar o digerir DNA en fragmentos menores. En 1978 Smith compartió el premio Nobel con Werner Arber y Daniel Nathans por sus descubrimientos sobre las enzimas de restricción y sus aplicaciones.

Las enzimas de restricción se encuentran sobre todo en las bacterias y se les da nombres abreviados basados en los nombres del género y especie de las bacterias a partir de las que se aíslan. Por ejemplo, una de las primeras enzimas de restricción en ser aislada, *Eco*RI, se denomina así porque se descubrió en una cadena de *E. coli* llamada RY13. Las enzimas de restricción cortan el DNA rompiendo el enlace fosfodiéster (en el eje azúcar fosfato) que une los nucleótidos adyacentes en una cadena de DNA. Sin embargo, las enzimas de restricción no cortan el DNA al azar, ni todas las enzimas de restricción cortan el DNA en los mismos sitios. Como las demás enzimas, las enzimas de restricción muestran ser específicas de determinados **sustratos.** Para estas enzimas, el sustrato es el DNA. Como se muestra en la Figura 3.1a, las enzimas de restricción se unen al DNA, reconocen y cortan (digieren) en secuencias específicas de bases denominadas **secuencias de reconocimiento o posición de restricción.**

A las enzimas de restricción se las conoce normalmente como cortadoras de cuatro o de seis pares de bases porque reconocen típicamente posiciones con una secuencia de cuatro o seis nucleótidos. También se han identificado cortadoras de ocho pares de bases. Estas secuencias de reconocimiento son **palíndromos:** la disposición de los nucleótidos se lee del mismo modo hacia delante y hacia atrás de las hebras opuestas de una molécula de DNA. (Recuerda la palabra «reconocer» o la frase «dábale arroz a la zorra el abad» como ejemplos de palíndromos.) Algunas enzimas de restricción como la *Eco*RI cortan el DNA para construir fragmentos de DNA con extremos sobresalientes de una sola hebra denominados **extremos cohesivos** o «pegajosos» (ver Figura 3.1a); otras enzimas construyen fragmentos con extremos no sobresalientes de doble hélice denominados **extremos romos.** La Tabla 3.1 muestra algunas enzimas de restricción comunes, sus microorganismos de origen y sus secuencias de reconocimiento. Ten en cuenta que las tres primeras enzimas de la tabla son cortadoras de seis pares de bases que producen moléculas de DNA con extremos cohesivos. La cuarta enzima (*Taq*I) es una cortadora de cuatro pares de bases que produce extremos cohesivos, y las tres últimas enzimas producen fragmentos de DNA con extremos romos. Las enzimas que producen extremos cohesivos a menudo se prefieren a las cortadoras de extremos romos en muchos experimentos de clonación porque los fragmentos de DNA con extremos cohesivos se pueden unir más fácilmente entre sí. El DNA de *cualquier* fuente, como bacterias, humanos, perros, gatos, ranas, dinosaurios o antiguos restos humanos se puede digerir por una enzima de restricción particular siempre que el DNA tenga una posición de restricción para esa enzima. Ten esto en cuenta conforme lees las páginas siguientes. En el sentido más simple, el descubrimiento de las enzimas de restricción dotó a los biólogos moleculares de las «tijeras» necesarias para realizar la clonación de genes.

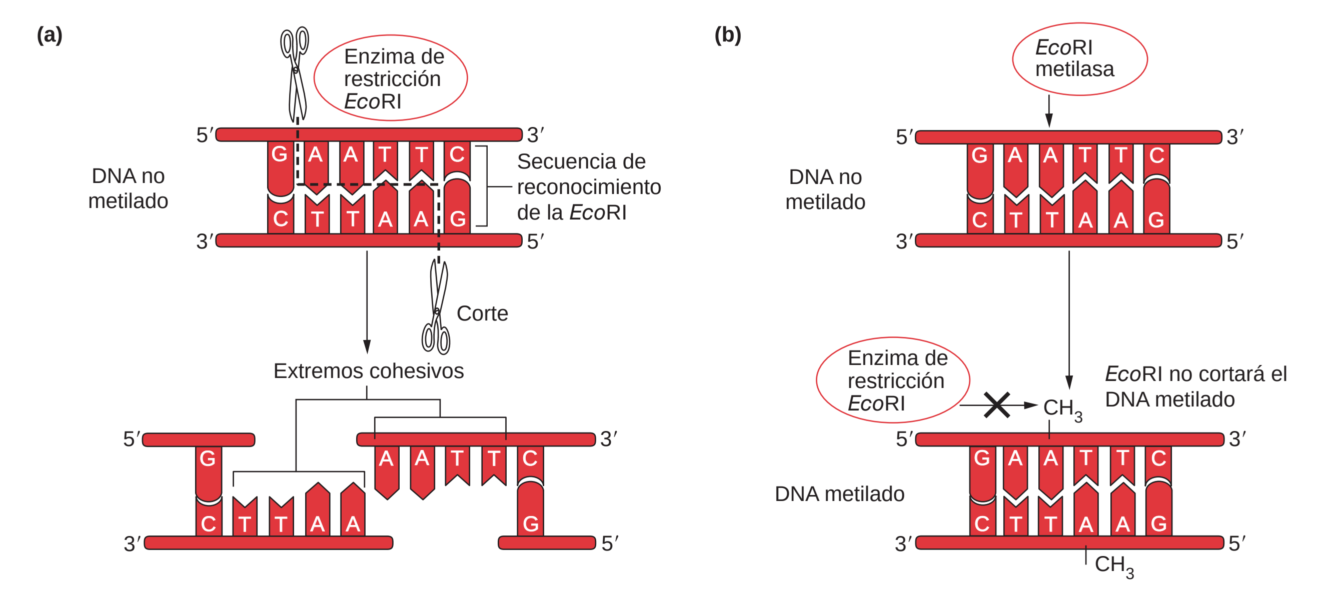
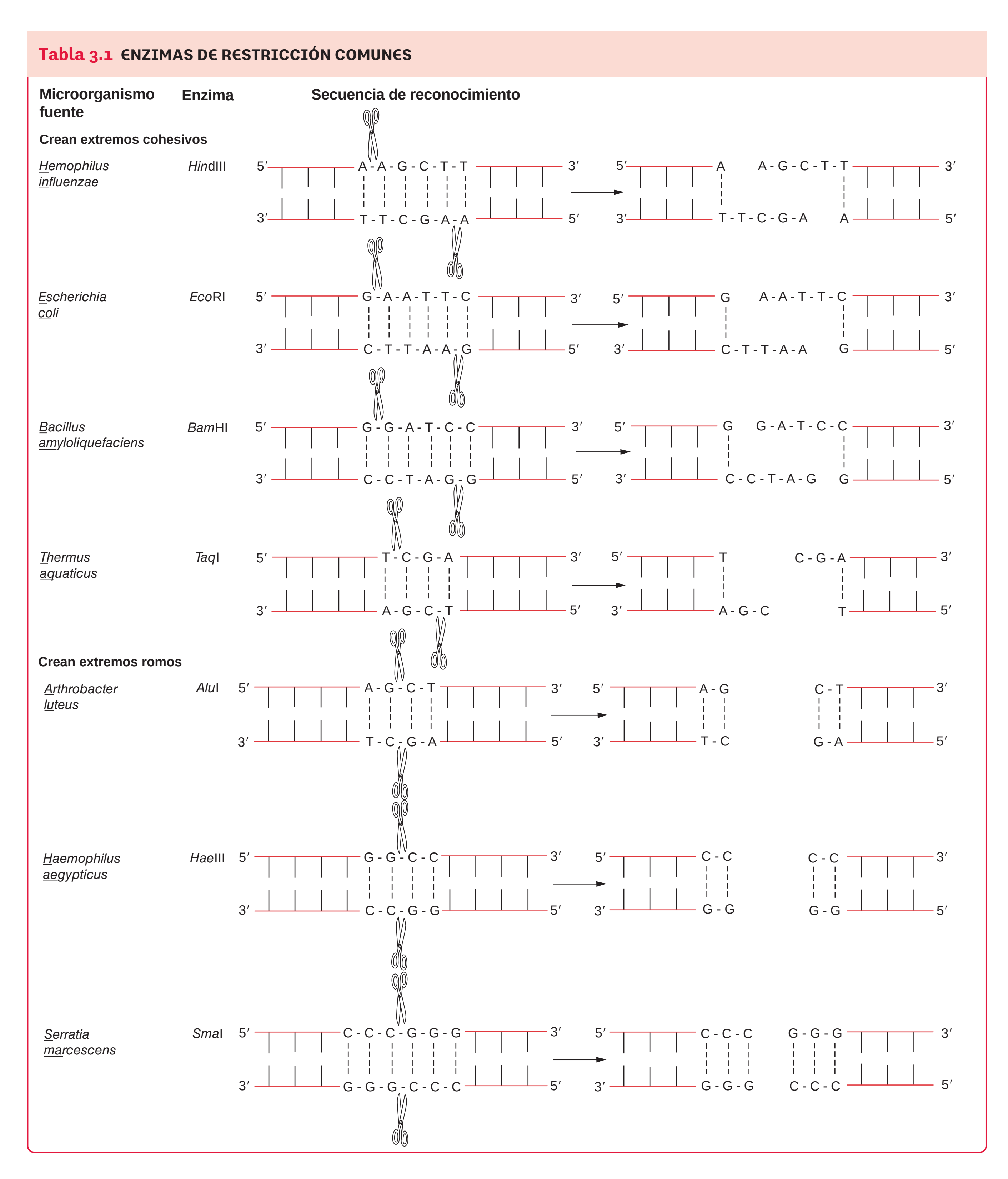


Figura 3.1 Secuencia de reconocimiento de la enzima de restricción y acción de la enzima (a) La digestión del DNA por *Eco*RI produce fragmentos de DNA con extremos cohesivos. (b) La metilación de la secuencia de reconocimiento por la enzima *Eco*RI metilasa bloquea el corte del DNA por parte de *Eco*RI.



A comienzos de la década de los setenta, Paul Berg, Herbert Boyer, Stanley Cohen y sus colegas de la Universidad Stanford cambiaron la biología molecular para siempre al hacer uso de la clonación de genes. Berg inició la tecnología del DNA recombinante cuando creó un trozo de DNA uniendo (empalmando) DNA del cromosoma de *E. coli* y DNA de un virus de primate denominado SV40 (virus de simio 40). Berg aisló el DNA cromosómico de *E. coli* y el DNA de SV40 y posteriormente cortó ambas muestras de DNA con *Eco*RI. Después, aña-

PyR

P ¿Por qué las enzimas de restricción no digieren el DNA cromosómico en las células bacterianas?

R Las bacterias están protegidas de la digestión enzimática de sus DNA porque algunos de los nucleótidos presentes en su DNA contienen grupos metilo que bloquean la acción digestiva de las enzimas de restricción (ver Figura 3.1b). Muchos fagos no suelen metilar su DNA, de modo que son susceptibles a la degradación del DNA por parte de las enzimas de restricción. Sin embargo, ciertos bacteriófagos han evolucionado para utilizar la metilación como forma de evitar la digestión de las enzimas de restricción. Uniendo grupos metilo a sus DNA, los fagos utilizan la metilación para protegerse de ser destruidos por las enzimas de restricción.

dió DNA de *E. coli* y fragmentos de DNA viral en un tubo de reacción con la enzima DNA ligasa y tuvo éxito al crear una molécula híbrida de DNA de SV40 y de *E. coli*. La importancia de este descubrimiento consiguió su pleno reconocimiento cuando Paul Berg obtuvo el Premio Nobel de Química en 1980 por este experimento, que demostró que se podía cortar el DNA de fuentes diferentes con la misma enzima y que los fragmentos de restricción se podían unir para crear una molécula de DNA recombinante. Berg compartió este galardón con Walter Gilbert y Frederick Sanger, quienes desarrollaron métodos independientemente para secuenciar el DNA, proceso que tratamos en la Sección 3.4.

Berg trabajó con DNA cromosómico; Cohen estaba interesado en la biología molecular de las pequeñas partes circulares de DNA conocidas como *plásmidos.* Se puede encontrar plásmidos de DNA principalmente en bacterias. Los plásmidos se consideran DNA **extracromosómico** porque están presentes en el citoplasma bacteriano a parte del cromosoma bacteriano. Los plásmidos son pequeños (la media es de 1.000 a 4.000 pb de tamaño) y auto-replicantes (se duplican con independencia del cromosoma bacteriano). Cohen estudió la replicación de los plásmidos, la transferencia de plásmidos entre bacterias y los mecanismos de la resistencia bacteriana a los antibióticos.

Cohen postulaba que se podía utilizar a los plásmidos como **vectores,** partes de DNA que pueden aceptar, transportar y replicar (clonar) otras partes de DNA. Cohen y Boyer trabajaron con dos plásmidos bacterianos para clonar DNA con éxito. Publicaron los resultados describiendo estos experimentos en 1973. Muchos consideran que este trabajo es el nacimiento no formal de la tecnología del DNA recombinante. Utilizando *Eco*RI, una enzima de restricción previamente aislada por Herbert Boyer, cortaron ambos plásmidos y después unieron fragmentos de cada plásmido utilizando DNA ligasa para crear nuevos plásmidos híbridos (recombinantes). Recuerda que la DNA ligasa cataliza la formación de enlaces fosfodiéster entre nucleótidos. La ligasa puede unir el DNA con extremos cohesivos así como fragmentos de extremos romos. Como resultado de este y de otros experimentos, Cohen y Boyer produjeron el primer vector plásmido para fines de clonación, denominado pSC101 y bautizado como «SC» por Stanley Cohen. pSC101 contenía un gen de resistencia a las tetraciclinas y sitios de restricción para varias enzimas incluyendo *Eco*RI y *Hin*dIII. En trabajos posteriores utilizaron experimentos similares para clonar DNA de la rana sudafricana de uñas *Xenopus laevis* (otro organismo modelo importante en genética y en biología del desarrollo) en el sitio *Eco*RI de pSC101. La Figura 3.2 ilustra cómo se puede formar DNA recombinante en un proceso similar al utilizado en los experimentos de Cohen y de Boyer.

Cohen y Boyer habían creado el primer vector de clonación de DNA, un vehículo para la inserción y la replicación del DNA, y en 1980 les concedieron patentes para pSC101 y para las técnicas de empalme génico y clonación que habían desarrollado. Estos experimentos marcaron el nacimiento de la biotecnología moderna porque muchas de las técnicas actuales utilizadas para la clonación y manipulación genética están basadas en estos métodos fundamentales de tecnología del DNA recombinante.

En 1974, como resultado directo de los experimentos de Berg, Cohen y Boyer, los pioneros de la clonación de genes y los críticos de la clonación expresaron su inquietud por la seguridad de los organismos modificados genéticamente. A los científicos les preocupaba lo que podría ocurrir si las bacterias recombinantes abandonaran el laboratorio o si esas bacterias pudieran transferir sus genes a otras células o sobrevivir en otros organismos incluyendo a los seres humanos. En 1975, un grupo invitado de conocidos biólogos moleculares, virólogos, microbiólogos, abogados y periodistas se reunió en el Centro de Conferencias Asilomar en Pacific Grove, California, para discutir los beneficios y los peligros potenciales que entraña la tecnología del DNA recombinante. Como resultado de la histórica reunión en Asilomar, los Institutos Nacionales de Salud **(National Institutes of Health,** o **NIH)** crearon el Comité Asesor del DNA Recombinante **(Recombinant DNA Advisory Committee,** o **RAC),** encargado de la evaluación de los riesgos de la tecnología del DNA recombinante y del establecimiento de directrices para su investigación. En 1976, el RAC publicó un conjunto de directrices para trabajar con organismos recombinantes. El RAC continúa supervisando la investigación en el campo de la clonación de genes y el cumplimiento de sus directrices es obligatorio para los científicos que trabajan con organismos recombinantes.

Transformación de células bacterianas y selección antibiótica de bacterias recombinantes

Cohen también hizo otra contribución importante a la clonación de genes, que posibilitó los experimentos de clonación del pSC101. Su laboratorio demostró la **transformación,** un proceso para insertar DNA extraño en bacterias. Cohen descubrió que si trataba células bac-

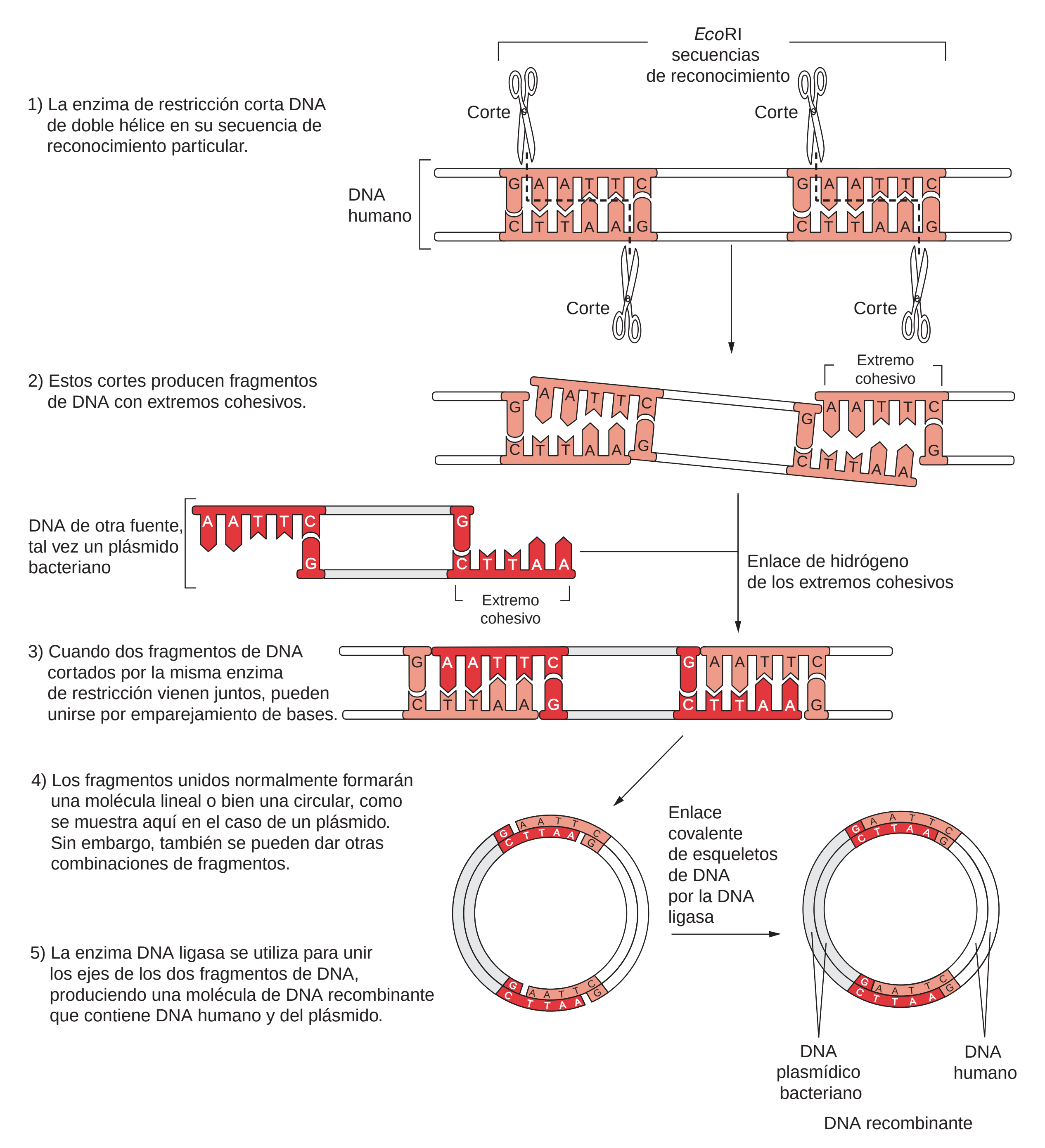


Figura 3.2 **Crear DNA recombinante** La enzima de restricción *Eco*RI se une a una secuencia específica (5′-GAATTC-3′) y posteriormente corta el eje del DNA, produciendo fragmentos de DNA. Los extremos de hebra única de los fragmentos de DNA pueden crear enlaces de hidrógeno entre ellos porque tienen pares de bases complementarias. La enzima DNA ligasa puede, entonces, catalizar la formación de enlaces covalentes en los ejes de DNA de los fragmentos para crear un trozo de DNA recombinante.

terianas con soluciones de cloruro cálcico, añadía DNA de plásmido a células puestas a enfriar en hielo y después calentaba brevemente la mezcla de células y DNA, el plásmido de DNA entraba en las células bacterianas. Una vez dentro de las bacterias, los plásmidos se replicaban y expresaban sus genes. (Se explica con más detalle la transformación bacteriana en el Capítulo 5.) Una técnica de transformación más moderna llamada **electroporación** implica aplicar un pulso breve (de un milisegundo) de electricidad de alto voltaje para hacer agujeros minúsculos

PyR

P ¿Por qué las bacterias tienen plásmidos?
R Las bacterias ya tenían plásmidos mucho antes de que los biólogos moleculares soñaran con la clonación del DNA. Existen, de manera natural, diversos tipos de plásmidos. Una de sus funciones principales es dar a las bacterias resistencia frente a los antibióticos, lo cual es posible porque muchos plásmidos contienen genes de resistencia antibiótica que codifican proteínas que, a su vez, pueden inactivar a los antibióticos o evitar que los antibióticos entren en las células bacterianas. Como aprenderás en este capítulo, los biólogos moleculares explotan convenientemente en sus experimentos de clonación de genes las propiedades de los plásmidos de resistir a los antibióticos. Otro tipo de plásmidos (los plásmidos col) pueden producir moléculas que destruyen otras bacterias. Los plásmidos denominados plásmidos F contienen genes que producen proteínas y pueden formar un tubo llamado pilus que permite la transferencia de DNA plasmídico entre las células bacterianas en un proceso denominado *conjugación*.

en la pared celular bacteriana que permitan entrar al DNA. La electroporación también se puede utilizar para introducir DNA en las células de los mamíferos y para transformar las células de las plantas.

La ligación de fragmentos de DNA y su transformación por cualquier método es aún ineficiente. Durante la ligación, alguno de los plásmidos digeridos se liga consigo mismo y crea un plásmido circular al que le falta DNA foráneo. Durante la transformación, la mayoría de las células no incorporan DNA.

Ahora que has aprendido cómo se puede insertar DNA en un vector y ya tienes conocimientos acerca de las células bacterianas, consideraremos cómo pueden distinguirse las bacterias recombinantes (las que han sido transformadas mediante un plásmido recombinante) de un gran número de bacterias no transformadas y de células bacterianas que contengan DNA de plásmidos sin DNA foráneo. Este proceso se denomina **selección,** porque está diseñado para facilitar la identificación de (la selección *a favor de*) bacterias recombinantes a la vez que evita el crecimiento de (la selección *en contra de*) bacterias no transformadas y bacterias que contienen plásmidos sin DNA foráneo. Cohen y Boyer utilizaron la **selección antibiótica,** una técnica en la que las células bacterianas transformadas se siembran en placas de agar con diversos antibióticos, como medio para identificar bacterias recombinantes y células no transformadas. Durante muchos años, la selección antibiótica fue un enfoque ampliamente utilizado; sin embargo, más recientemente, las técnicas de clonación a menudo incorporan otras estrategias de selección más populares como la selección «azul-blanca» (el motivo de este nombre pronto será obvio). En la selección azul-blanca, se clona el DNA en un sitio de restricción en el gen *lacZ,* como se ilustra en la Figura 3.3. Recuerda del Capítulo 2 que el gen *lacZ* codifica β-galactosidasa (β-gal), una enzima que degrada el disacárido lactosa en los monosacáridos glucosa y galactosa. Cuando se interrumpe por un gen insertado, el gen *lacZ* es incapaz de producir β-gal funcional.

Las bacterias transformadas se siembran en placas de agar que contienen un antibiótico, ampicilina en este ejemplo. Las bacterias no transformadas no pueden crecer en presencia de ampicilina porque les falta el DNA del plásmido que contenga un gen de resistencia a la ampicilina (amp^R). El agar también contiene un sustrato cromogénico (que produce color) para la β-gal llamado X-gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-galactopiranósido). X-gal es similar a la lactosa en estructura y se vuelve azul cuando lo rompe β-gal. Como resultado, las bacterias no recombinantes, las que contienen un plásmido que se ligó consigo mismo sin DNA insertado, contienen un gen *lacZ* funcional, producen β-gal y se vuelven azules. A la inversa, las bacterias recombinantes se pueden identificar porque aparecen como colonias blancas. Como estas células contienen plásmido con DNA foráneo insertado dentro del gen *lacZ,* no se produce β-gal y estas células no pueden metabolizar X-gal. Por lo tanto, mediante la selección azul-blanca, las bacterias no transformadas y las no recombinantes se *seleccionan en contra* y las colonias blancas se identifican o *seleccionan a favor* como colonias buscadas que contienen DNA recombinante. Las colonias que contienen plásmido recombinante son **clones,** células bacterianas genéticamente idénticas cada una conteniendo copias del plásmido recombinante.

Introducción a la clonación de genes humanos

Las enzimas de restricción, la DNA ligasa y los plásmidos son las herramientas principales que tienen los biólogos moleculares para manipular y clonar genes provenientes de casi cualquier fuente. Con el descubrimiento de la transformación, los científicos encontraron un modo de introducir DNA recombinante en las células bacterianas. La tecnología del DNA recombinante hizo posible cortar y unir casi cualquier fragmento de DNA con otros, insertar DNA en un plásmido (se suele llamar al DNA clonado en un plásmido DNA «insertado») y producir grandes cantidades del DNA insertado haciendo que las bacterias se conviertan en las bestias de carga de la replicación del DNA recombinante.

Si el fragmento de DNA clonado es un gen que codifica un producto proteico, se podrían utilizar las células bacterianas para sintetizar el producto proteico del gen clonado. A esto lo llamamos «expresar» una proteína. Los biólogos moleculares reconocieron que si se pudieran clonar y expresar los genes humanos, la tecnología del DNA recombinante se convertiría en una herramienta muy valiosa con poderosas y emocionantes aplicaciones en investigación y medicina. Como se puede hacer crecer a las bacterias en preparaciones a gran escala (estos procesos se describen con más detalle en los Capítulos 4 y 5), los científicos pueden producir grandes cantidades del DNA clonado y aislar cantidades de proteínas que normalmente sería muy difícil o caro purificar sin clonarlas. Como resultado de la tec-

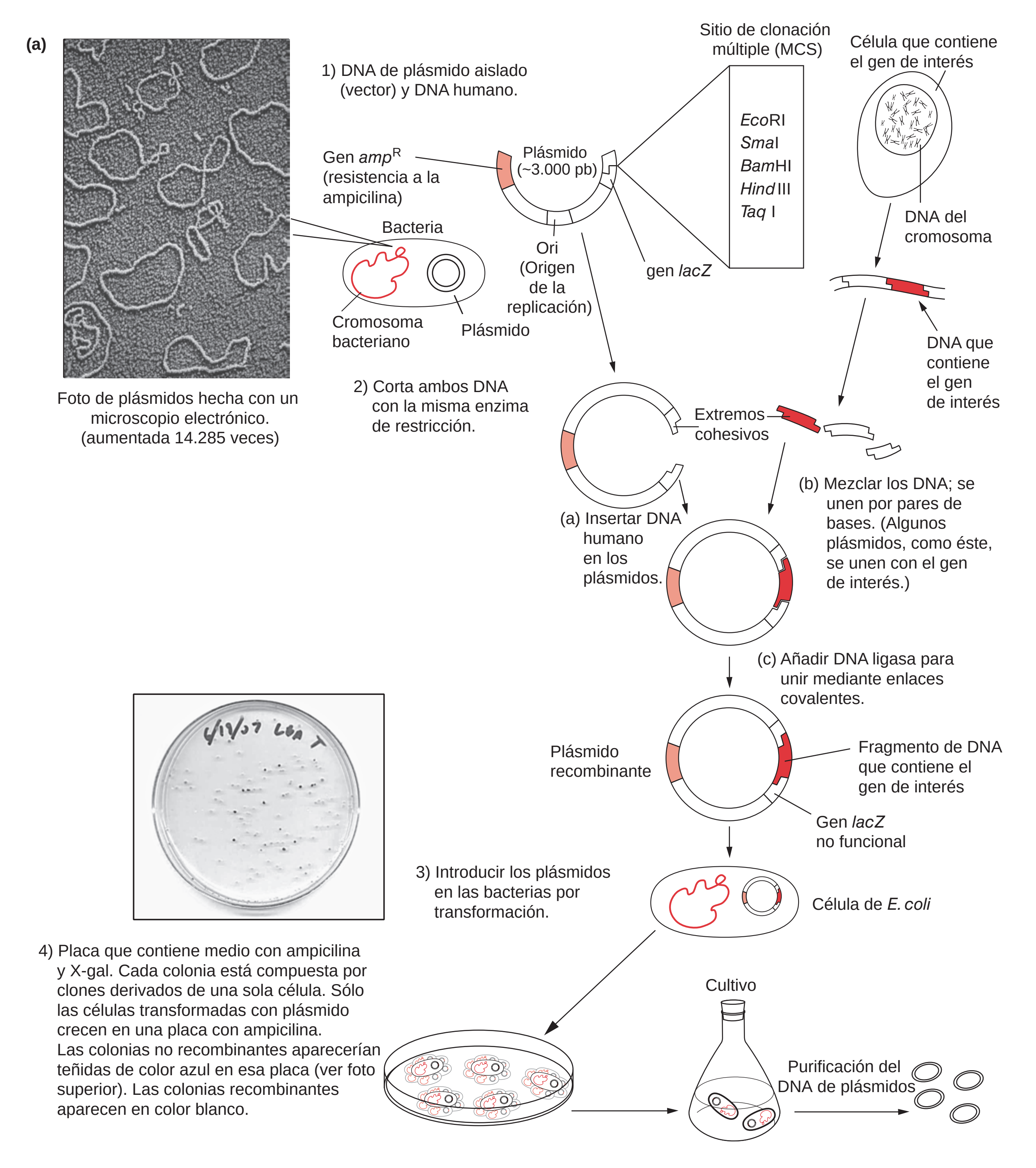


Figura 3.3 **Clonación de un gen en un plásmido con selección azul-blanca.**

nología del DNA recombinante, se puede producir un gran abanico de valiosas proteínas a partir de genes clonados que, de otro modo, sería muy difícil obtener.

Los genes humanos se pueden clonar en plásmidos de DNA y replicarlos en bacterias utilizando la tecnología del DNA recombinante. El primer producto genético humano de esta tecnología disponible comercialmente fue la **insulina** humana, una hormona peptídica producida por células del páncreas llamadas células beta. Cuando suben los niveles de glucosa en sangre, por ejemplo, tras haber ingerido una comida rica en azúcares, la insulina baja el nivel de glucosa en sangre estimulando el almacenamiento de glucosa en el hígado y en las células musculares en forma de largas cadenas de glucosa llamadas glucógeno.

Las personas con **diabetes mellitus de tipo I,** o **insulino-dependiente (DMID)** no producen insulina por sí mismas. Como resultado de esta carencia de insulina, los diabéticos experimentan niveles de azúcar en sangre excesivamente altos (hiperglucemia) que, con el tiempo, pueden ocasionar daños graves en muchos órganos del cuerpo. En 1977, se clonó insulina en un plásmido bacteriano, expresado en células bacterianas, y los científicos de **Genentech,** una empresa de biotecnología de San Francisco, California, creada en 1976 por Herbert Boyer y Robert Swanson, aislaron esta insulina. En el Capítulo 5 examinaremos los detalles de las técnicas utilizadas para clonar insulina. Se suele considerar que Genentech, abreviatura de tecnología de ingeniería genética, es la primera empresa de biotecnología.

En 1982, la forma recombinante de insulina humana, llamada **Humulina,** se convirtió en el primer producto de DNA recombinante aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos (U.S. Food and Drug Administration) para aplicaciones humanas. Poco después de que la insulina se pusiera a disposición, se clonó la hormona de crecimiento (utilizada para tratar niños que sufren de una variedad de enanismo) y, debido a la tecnología del DNA recombinante, una gran variedad de otras proteínas de importancia médica que en su día habían sido difíciles de obtener en cantidades adecuadas, se pudieron poner a disposición.

Antes de la tecnología del DNA recombinante, hormonas importantes como la insulina y la hormona de crecimiento se tuvieron que aislar de los tejidos. La hormona de crecimiento se aisló de las glándulas pituitarias de los cadáveres humanos. Este proceso no sólo era caro e ineficaz, sino que estos aislamientos también conllevaban el riesgo de contaminar con virus desconocidos y otros patógenos a las personas que recibían la hormona. Ahora hay varios cientos de productos de tecnología de DNA recombinante en el mercado con muchas aplicaciones en investigación básica, medicina y agricultura.

Con una comprensión básica de las técnicas implicadas en la manipulación de un trozo de DNA, en la siguiente sección continuaremos examinando algunos aspectos importantes de los vectores de DNA y cómo se eligen y utilizan los diferentes vectores dependiendo de lo que se desee conseguir.

3.2 ¿Qué necesita tener un vector para ser bueno?

El número de vectores de DNA diferentes, funciones de vectores y aplicaciones ha aumentado sustancialmente desde que Stanley Cohen construyó pSC101. Los plásmidos siguen siendo los vectores de clonación más utilizados. Son populares porque permiten la clonación y manipulación rutinaria de trozos pequeños de DNA que forman la base de muchas técnicas utilizadas a diario en un laboratorio de biología molecular. Además, es bastante sencillo transformar células bacterianas con DNA plasmídico y relativamente sencillo aislar DNA plasmídico de células bacterianas. Uno de los primeros vectores de DNA plasmídico, denominado pBR322, se diseñó para tener genes de resistencia a la ampicilina y a la tetraciclina y varios sitios de restricción útiles. Sin embargo, se ha trabajado en la ingeniería de los vectores de clonación del DNA plasmídico a lo largo de los años para que incorporen otras características importantes que han hecho que el pBR322 en la actualidad sea prácticamente obsoleto.

Características prácticas de los vectores de clonación del DNA

Los modernos vectores de clonación del DNA plasmídico suelen incluir la mayoría de las siguientes características deseables y prácticas.

- *Tamaño:* deberían ser lo suficientemente pequeños como para que se puedan separar fácilmente del DNA cromosómico de la bacteria hospedadora.
- *Origen de la replicación* (ori): es el sitio de replicación del DNA que permite a los plásmidos replicarse de forma separada del cromosoma de la célula hospedadora. El número de plásmidos que hay en una célula se denomina **número de copias.** El número normal de copias de plásmidos en la mayoría de las células bacterianas es pequeño (suele ser menos de 12 plásmidos por célula); sin embargo, muchos de los plásmidos de clonación más deseables se conocen como plásmidos de alto número de copias porque se replican para crear cientos de miles de copias de plásmidos por célula.
- *Sitio de clonación múltiple* (MCS): el MCS, también llamado polylinker, es un fragmento de DNA con secuencias de reconocimiento para muchas enzimas de restricción comunes diferentes (ver Figura 3.3a). Estos sitios se crean en el plásmido de modo que la digestión del plásmido por las enzimas de restricción no da como resultado la pérdida de un fragmento de DNA. Más bien, lo que ocurre es que el plásmido circular sencillamente se vuelve lineal cuando lo digiere una enzima de restricción. Un MCS (o polylinker) aporta gran flexibilidad a los fragmentos de DNA que pueden ser clonados en un plásmido porque es posible insertar fragmentos de DNA generados por los cortes con muchas enzimas diferentes.
- *Genes marcadores que se puedan seleccionar:* estos genes permiten la selección e identificación de bacterias transformadas mediante un plásmido recombinante en comparación con las células no transformadas. Algunos de los marcadores más comunes que se pueden seleccionar son genes de resistencia a la ampicilina (amp^R) y a la tetraciclina (tet^R) y el gen *lacZ* utilizado para la selección azul-blanca.
- *Secuencias del promotor de RNA polimerasa:* se utilizan estas secuencias para la transcripción del RNA *in vivo*

e *in vitro* por la RNA polimerasa. Recuerda del Capítulo 2 que la RNA polimerasa copia el DNA en RNA durante la transcripción. *In vivo,* estas secuencias permiten a las células bacterianas fabricar RNA a partir de genes clonados, lo que a su vez causa la síntesis de proteínas. El RNA transcrito *in vitro* puede ser utilizado para sintetizar «sondas» de RNA que pueden servir para estudiar la expresión génica, como se describe en la Sección 3.4.

- *Secuencias de cebadores (primers u oligonucleótidos) para la secuenciación del DNA:* estos cebadores permiten la secuenciación de nucleótidos de fragmentos de DNA clonado (como se describe en la Sección 3.4) que hayan sido insertados en el plásmido.

Tipos de vectores

Igual que un destornillador no puede utilizarse para todos los tipos y tamaños de tornillos, vectores como los plásmidos bacterianos no pueden ser utilizados para todas las aplicaciones en biotecnología. Hay limitaciones a cómo se pueden utilizar los plásmidos en la clonación. Una primera limitación es el tamaño del fragmento de DNA que se puede insertar en un plásmido. El tamaño de los insertos no suele poder exceder de, aproximadamente, 6 a 7 kilobases (1 kb = 1.000 pb). Además, a veces las bacterias expresan mal las proteínas de los genes de eucariotas. Como resultado de estas limitaciones, los biólogos moleculares han trabajado para desarrollar muchos otros tipos de vectores de DNA, cada uno con sus beneficios particulares dependiendo de la aplicación de clonación. La Tabla 3.2 compara las características importantes, las fuentes y las aplicaciones de diversos tipos de vectores de clonación.

Vectores bacteriófagos

El DNA del bacteriófago lambda (λ) fue uno de los primeros vectores fágicos utilizados en la clonación. El cromosoma λ es una estructura lineal de aproximadamente 49 kb de tamaño (Figura 3.4). El DNA clonado se inserta en los sitios de restricción en el centro del cromosoma λ. Después, los cromosomas recombinantes se empaquetan en partículas virales *in vitro,* y se utilizan estos fagos para infectar *E. coli* creciendo como un césped (una capa continua que cubre la placa). A cada extremo del cromosoma λ hay secuencias de 12 nucleótidos llamadas sitios o extremos cohesivos (COS) que pueden emparejar sus bases unos con otros. Cuando λ infecta a *E. coli* como hospedadora, el cromosoma λ utiliza estos sitios o extremos COS para circularizarse y después replicarse. El bacteriófago λ se replica mediante un proceso conocido como **ciclo lítico.** A medida que λ se replica para crear más partículas víricas, las células de *E. coli* infectadas se lisan (*lisis* signi-

Tabla 3.2 COMPARATIVA DE VECTORES DNA Y SUS APLICACIONES

Tipo de vector	Máximo tamaño de inserción (kb)	Aplicaciones	Limitaciones
Vectores plásmidos bacterianos (circulares)	~6-12	Clonación de DNA, expresión de proteínas, subclonación, secuenciación directa del inserto	Tamaño de inserción restringido, expresión limitada de proteínas, problemas con el número de copias, replicación restringida a las bacterias
	DNA	DNA	
Vectores bacteriófagos (lineales)	~25	DNA complementario (cDNA), bibliotecas genómicas y bibliotecas de expresión	Limitaciones al empaquetamiento del DNA por su tamaño de inserción; problemas de replicación del hospedador
Cósmido (circular)	~35	Bibliotecas genómicas y bibliotecas de cDNA, clonación de grandes fragmentos de DNA	Restricciones de empaquetamiento del fago; no es ideal para la expresión de las proteínas; no se puede replicar en las células de los mamíferos
Cromosoma artificial bacteriano (BAC, circular)	~300	Bibliotecas genómicas, clonación de grandes fragmentos de DNA	Replicación restringida a las bacterias; no se puede utilizar para la expresión de las proteínas
Cromosoma artificial de levaduras (YAC, circular)	200-2.000	Bibliotecas genómicas, clonación de grandes fragmentos de DNA	Debe crecer en levadura; no se puede utilizar en bacteria
Vector Ti (circular)	Varía dependiendo del tipo de vector Ti utilizado	Transferencia de genes en plantas	Limitado a su uso sólo en células vegetales; número de sitios de restricción distribuido aleatoriamente; el gran tamaño del vector dificulta su manipulación

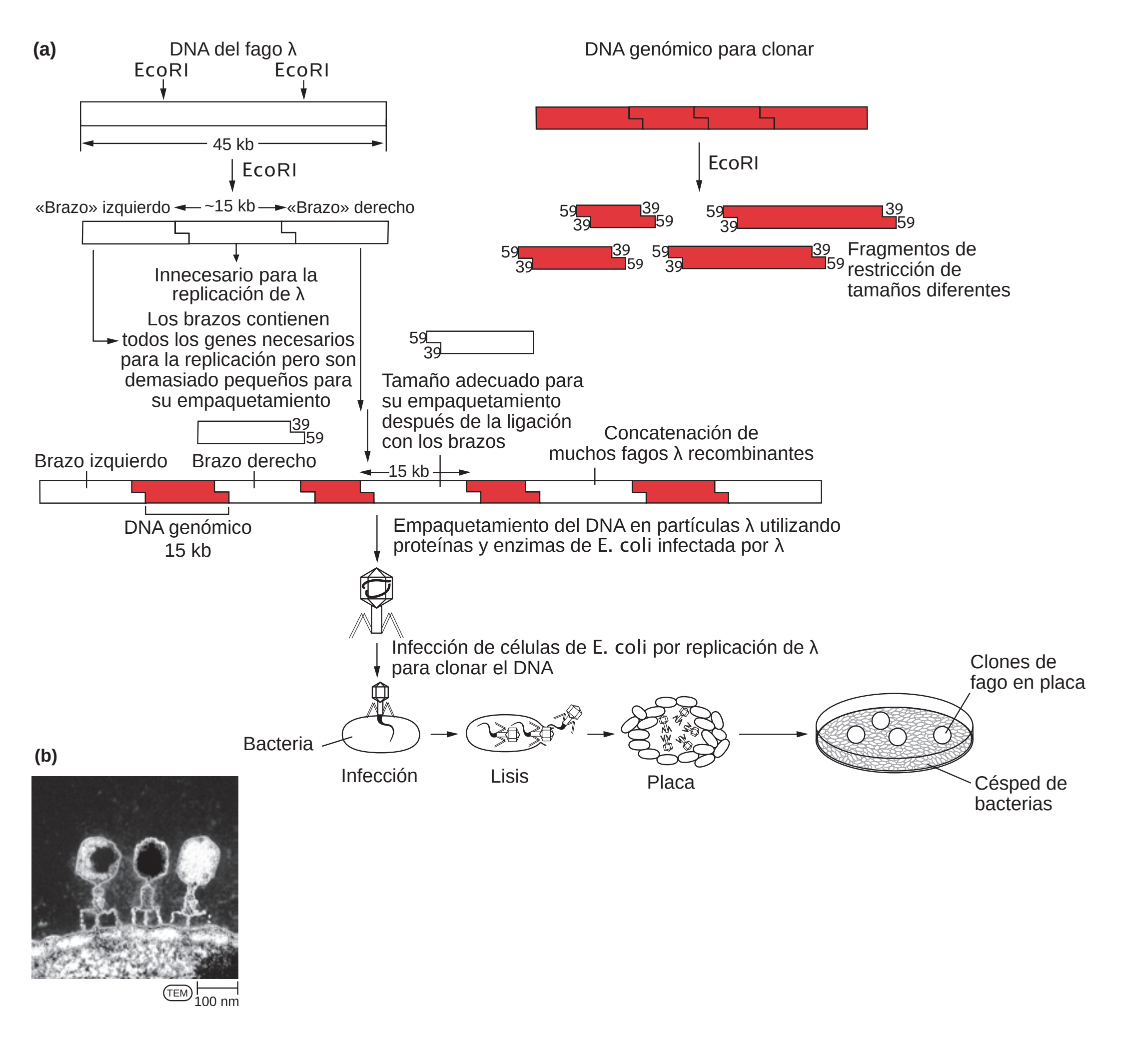


Figura 3.4 Clonación en bacteriófago lambda (a) Se clonan fragmentos de DNA foráneo en el cromosoma λ y después se «empaquetan» en partículas virales que se utilizan para infectar *E. coli* como césped en la placa. La lisis de células bacterianas por virus crea placas en el césped de *E. coli*. (b) Microfotografía electrónica de transmisión de un fago λ pegado a la superficie de *E. coli*.

fica ruptura) gracias a λ, creando zonas de bacterias muertas llamadas **placas** que aparecen como manchas más claras en el césped bacteriano. Cada placa contiene millones de partículas de fago recombinante. En la Sección 3.3, discutimos cómo se ven las placas para identificar el DNA recombinante. Una ventaja primordial de estos vectores es que permiten la clonación de fragmentos más grandes de DNA (de hasta aproximadamente 25 kb) que los plásmidos. Muchos vectores bacteriófagos también se pueden utilizar como vectores de expresión de proteínas.

Vectores cósmidos

Los **vectores cósmidos** contienen extremos COS de DNA λ, un origen plasmídico de replicación y genes de resistencia antibiótica, pero la mayoría de los genes virales se han eliminado. Se clona DNA en un sitio de restricción y el cósmido se empaqueta en partículas virales, como ocurre con los vectores bacteriófagos que se utilizan para infectar *E. coli,* en donde los cósmidos se replican como plásmido con bajo número de copias.

Las colonias bacterianas se forman en una placa y las recombinantes se pueden ver mediante selección antibiótica. Una de las principales ventajas de los cósmidos es que permiten la clonación de fragmentos de DNA en el rango de los 20 a los 45 kb.

Vectores de expresión

Los **vectores de expresión** de proteínas permiten la síntesis de alto nivel (expresión) de las proteínas eucariotas dentro de las células bacterianas porque contienen una secuencia promotora procariota adyacente al sitio en el que se inserta el DNA en el plásmido. La RNA polimerasa bacteriana puede unirse al promotor y sintetizar grandes cantidades de RNA (para el inserto), que después se traducen en proteína. Después, la proteína puede ser aislada utilizando las técnicas bioquímicas descritas en el Capítulo 4. Sin embargo, no siempre es posible expresar una proteína funcional en las bacterias. Por ejemplo, los ribosomas bacterianos a veces no pueden traducir las secuencias de mRNA eucariota. Si se produce una pro-

teína, puede ocurrir que no se doble ni sea procesada correctamente, como ocurre en las células eucariotas que utilizan organelos para doblar y modificar proteínas. También, hacer productos recombinantes en las bacterias puede convertirse en un problema porque *E. coli* a menudo no secreta proteínas, de modo que los vectores de expresión se utilizan con frecuencia en *Bacillus subtilis,* una cepa más adecuada para la secreción de proteínas.

En algunos casos, las bacterias hospedadoras pueden reconocer las proteínas recombinantes como foráneas y degradar la proteína, mientras que en otras la proteína expresada es letal para las células bacterianas hospedadoras. Ciertos virus, como SV40, pueden ser utilizados para transportar los vectores de expresión en las células de los mamíferos. Normalmente, los vectores derivados de SV40 contienen una fuerte secuencia promotora (viral) para transcripciones de alto nivel y una señal de poliadenilación para añadir una cola de poliadenilación al extremo 3′ de los mRNA sintetizados. Se han utilizado variaciones de vectores así en terapia génica humana como se describe en el Capítulo 11.

Cromosomas artificiales bacterianos

Los **cromosomas artificiales bacterianos (BAC)** son grandes plásmidos de bajo número de copias, presentes como de una a dos copias en células bacterianas que contienen genes que codifican el factor F (un conjunto de genes que controla la replicación bacteriana). Los BAC pueden aceptar insertos de DNA de entre los 100 a los 300 kb. Aún no está muy claro por qué los BAC pueden aceptar y replicar grandes fragmentos de DNA. Los BAC fueron muy utilizados en el Proyecto del Genoma Humano para clonar y secuenciar grandes fragmentos de cromosomas humanos.

Cromosomas artificiales de levaduras

Los **cromosomas artificiales de levaduras (YAC)** son pequeños plásmidos que han crecido en *E. coli* y han sido introducidos en células de levadura (como *Saccharomyces cerevisiae*). Un YAC es una versión en miniatura de un cromosoma eucariota. Los YAC contienen un origen de replicación, marcadores de selección, dos telómeros y un centrómero que permiten la replicación del YAC y la segregación en células hijas durante la división celular. Los fragmentos de DNA foráneo se clonan en un sitio de restricción en el centro del YAC. Los YACs son particularmente útiles para clonar grandes fragmentos de DNA de 200 kb hasta aproximadamente 2 megabases (mb = 1 millón de bases) de tamaño. Similares a los BAC, los YAC también han desempeñado un papel importante en los esfuerzos de clonación del Proyecto del Genoma Humano.

Vectores Ti

Los vectores Ti son plásmidos que se originan naturalmente (de alrededor de 200 kb de tamaño) aislados de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens,* un patógeno vegetal que vive en el suelo y que causa una enfermedad en las plantas llamada tumor del cuello o agalla. Cuando *A. tumefaciens* entra en las plantas hospedadoras, un fragmento de DNA (T-DNA) del plásmido Ti (letras que vienen de «inductor de tumores») se inserta en el cromosoma hospedador. El T-DNA codifica la síntesis de una hormona llamada auxina, que debilita la pared de la célula hospedadora. Las células infectadas se dividen y se agrandan para formar un tumor (agalla). Los genetistas de plantas reconocen que si pudieran eliminar la auxina y otros genes perjudiciales del plásmido Ti, el vector resultante podría utilizarse para implantar genes en las células vegetales. Los vectores Ti se utilizan para transferir genes a plantas, como veremos en el Capítulo 6.

Ahora que hemos examinado distintos tipos de vectores y sus aplicaciones, en la sección siguiente centraremos nuestra atención en cómo los científicos pueden utilizar la tecnología del DNA recombinante para identificar y clonar genes de interés.

3.3 ¿Cómo identificar y clonar un gen de interés?

Cortar y pegar diversas piezas de DNA para producir una molécula de DNA recombinante ha llegado a ser una técnica rutinaria en biología molecular. Pero los experimentos de clonación que hemos descrito hasta ahora permiten la clonación *aleatoria* de fragmentos de DNA basándose en sitios de corte de las enzimas de restricción y no en la clonación precisa de un solo gen o de un fragmento de DNA concreto de interés. Por ejemplo, si estuvieras interesado en clonar el gen de la insulina y simplemente cogieras DNA del páncreas, lo cortaras con enzimas y ligaras el DNA digerido en plásmidos, crearías cientos de miles de plásmidos recombinantes y no sólo un plásmido recombinante con el gen de insulina. Los biólogos moleculares denominan a este enfoque la clonación *shotgun* (o aleatoria) porque se clonan a la vez muchos fragmentos aleatoriamente y no hay genes individuales destinados específicamente para la clonación. ¿Cómo sabríamos qué plásmido recombinante contiene el gen de la insulina? Además, si el gen de la insulina (o las secuencias adyacentes) no tuviera sitios de reconocimiento para la enzima de restricción que hubiéramos utilizado, podría ocurrir que no tuviéramos ningún plásmido recombinante que contuviera el gen de la insulina. Aun si hubiéramos creado plásmidos con el gen de la insulina, ¿cómo podríamos separarlos de los otros plásmidos recombinantes? Es decir, ¿cómo podemos encontrar un gen concreto de interés y clonar sólo la secuencia de DNA que queremos estudiar? Estas preguntas pueden ser contestadas mediante un enfoque de clonación conocido como bibliotecas de DNA.

Crear bibliotecas de DNA: construir una colección de genes clonados

Muchas estrategias de clonación comienzan preparando una **biblioteca de DNA.** Las bibliotecas son colecciones

de fragmentos de DNA clonados de un organismo particular contenidos dentro de bacterias o virus como hospedadores. Las bibliotecas pueden almacenarse durante períodos relativamente largos de tiempo y «rastrearse» para elegir diversos genes de interés. Se suelen utilizar dos tipos de bibliotecas para la clonación: las **bibliotecas de DNA genómico** y las **bibliotecas de DNA complementario (bibliotecas de cDNA).** La Figura 3.5 muestra cómo se construyen ambos tipos de bibliotecas.

Las bibliotecas de DNA genómico frente a las bibliotecas de cDNA

En una biblioteca genómica, el DNA cromosómico del tejido de interés se aísla y después se digiere con una enzima de restricción (ver Figura 3.5a). Este proceso produce fragmentos de DNA que incluyen el genoma completo del organismo. Tanto un plásmido, como un BAC, un YAC o un vector bacteriófago se digieren con la misma enzima y la DNA ligasa se utiliza para ligar trozos de DNA genómico y vector de DNA aleatoriamente. En teoría, todos los fragmentos de DNA del genoma se clonarán en un vector. Después, los vectores recombinantes se usan para transformar bacterias y cada clon de célula bacteriana contendrá un plásmido con un fragmento de DNA genómico. Considera cada clon como un «libro» en esta «biblioteca» de fragmentos de DNA. Una desventaja de construir este tipo de biblioteca para los genes de eucariotas es que los fragmentos de DNA que no codifican proteínas (intrones) se clonan, además de otras secuencias que sí codifican proteínas (exones). Como gran parte del DNA de cualquier organismo eucariota está compuesta por intrones, muchos de los clones de una biblioteca genómica contendrán fragmentos de DNA que no codifiquen proteínas. Otra limitación de las bibliotecas genómicas es que muchos organismos, incluyendo a los humanos, tienen un genoma tan grande que buscar un gen de interés es como buscar una aguja en un pajar.

En una biblioteca de cDNA, el mRNA del tejido de interés se aísla y se utiliza para hacer la biblioteca. Sin embargo, no se puede cortar el mRNA directamente con enzimas de restricción, de modo que se debe convertir en una molécula de DNA de doble hélice. Se utiliza una enzima viral llamada **transcriptasa inversa (RT)** para catalizar la síntesis de DNA de hebra única a partir del mRNA (ver Figura 3.5b). Esta enzima es formada por un tipo de virus llamado **retrovirus,** así llamado porque constituye una excepción al flujo habitual de información genética. En vez de tener un genoma de DNA que se utilice para fabricar RNA, los retrovirus tienen un genoma de RNA. Después de infectar a las células hospedadoras, utilizan la RT para mediar su conversión de RNA a DNA y poder replicarse. El virus de inmunodeficiencia humana (VIH), el agente causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida), es un retrovirus. Otros retrovirus tienen aplicaciones importantes en biotecnología como vectores de terapia génica. El Capítulo 11 tratará de estos temas. Como este DNA ha sido sintetizado como una copia exacta del mRNA, recibe el nombre de DNA complementario (cDNA). El mRNA se degrada mediante tratamiento con una solución alcalina o digerido enzimáticamente; a continuación se utiliza DNA polimerasa para sintetizar una segunda hebra y crear cDNA de doble hélice.

Como las secuencias de cDNA no han de tener necesariamente sitios adecuados de corte para las enzimas de restricción en cada extremo, a menudo se añaden secuencias cortas de DNA de doble hélice, llamadas *secuencias adaptadoras* o *secuencias linker,* a los extremos del cDNA. Los linkers contienen un sitio de reconocimiento de enzimas de restricción. Se pueden conseguir comercialmente los diferentes linkers para los diversos sitios de las enzimas de restricción. Añadiendo linkers, el cDNA puede ligarse en un sitio de restricción conveniente en un vector de nuestra elección, a menudo un plásmido. Posteriormente, se puede utilizar el plásmido recombinante para transformar las bacterias.

Una de las ventajas principales de las bibliotecas de cDNA sobre las bibliotecas genómicas es que las primeras son colecciones de genes *expresados* activamente en las células o en el tejido del que se aisló el mRNA. No se clonan intrones en una biblioteca de cDNA, lo que reduce significativamente la cantidad total de DNA que se clona en comparación con una biblioteca genómica. Por este motivo, se suelen preferir las bibliotecas de cDNA a las bibliotecas genómicas cuando se intenta clonar un gen de interés. Otra ventaja de las bibliotecas de cDNA es que pueden construirse y rastrearse para aislar genes que se expresan principalmente sólo bajo ciertas condiciones en un tejido. Por ejemplo, si un gen sólo es expresado en un tejido estimulado por una hormona, los investigadores hacen bibliotecas de células estimuladas por hormonas para aumentar la probabilidad de clonar genes sensibles a las hormonas. Las bibliotecas han llegado a ser un aspecto tan rutinario de la biología molecular que muchas empresas venden bibliotecas preparadas a partir de una serie de tejidos de diversas especies. Una desventaja es que puede ser difícil construir y rastrear bibliotecas de cDNA si no está disponible un tejido fuente con una gran cantidad de mRNA para el gen. Pero, como aprenderás, una técnica denominada *reacción en cadena de la polimerasa (PCR)* con frecuencia puede resolver este problema.

Rastreo de la biblioteca

Una vez se ha construido una biblioteca genómica o una biblioteca de cDNA, deberá ser *rastreada* para identificar los genes de interés. Una de las técnicas más habituales de rastreo de bibliotecas es la llamada **hibridación de colonias** (ver Figura 3.6). En la hibridación de colonias, las colonias bacterianas de la biblioteca que contienen DNA recombinante se cultivan en una placa de agar. Se coloca un filtro de nylon o de nitrocelulosa sobre la placa y algunas de las células bacterianas se pegan al filtro en el mismo lugar en el que se encuentran en la placa. Si se utilizan vectores bacteriófagos, los fagos se transfieren al filtro. El filtro se trata con una solución alcalina para provocar la lisis de las bacterias y desnaturalizar su DNA, que se unirá al filtro como moléculas de una sola hebra. Pos-

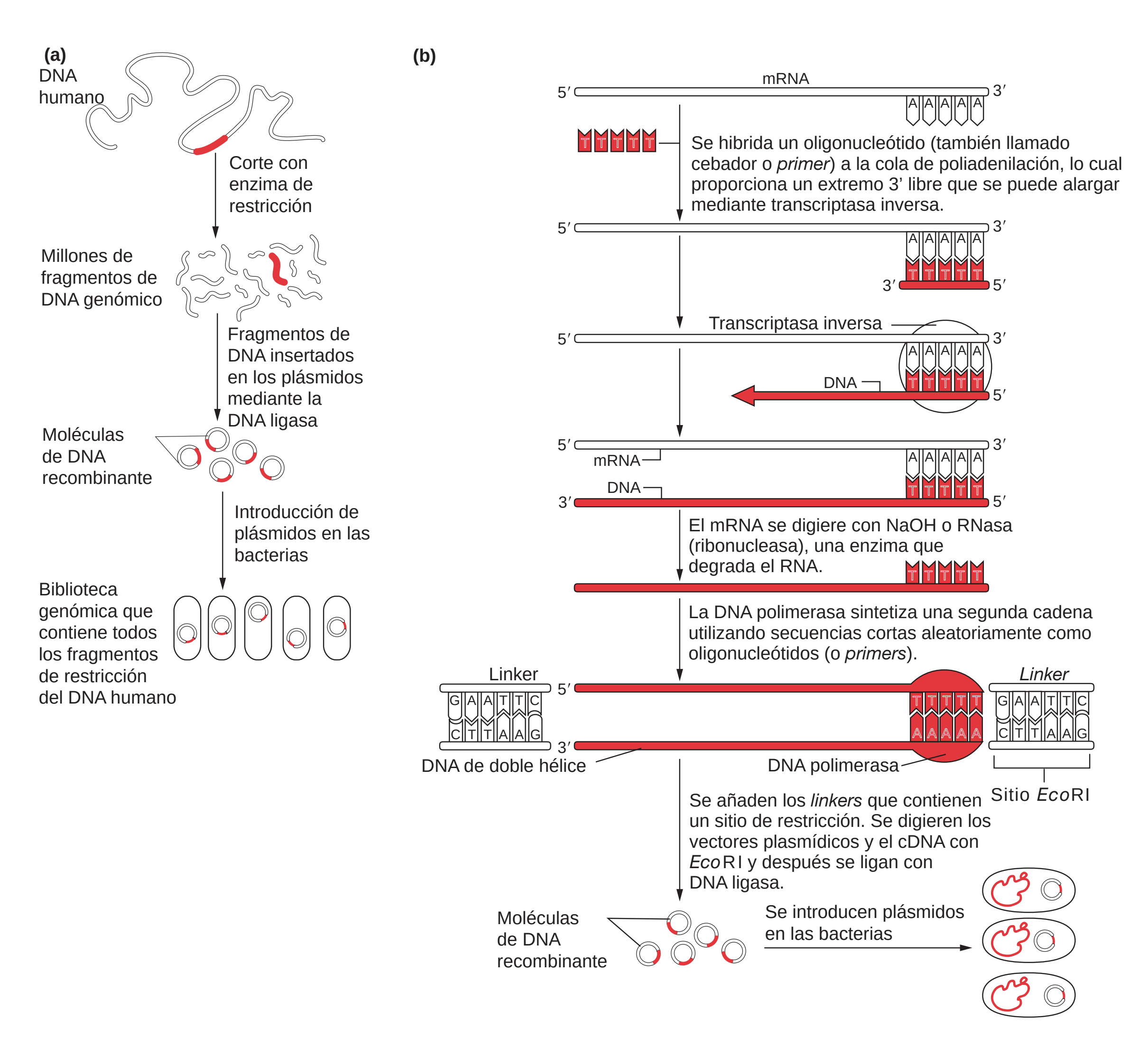


Figura 3.5 Comparación de una biblioteca de DNA genómico humano y una biblioteca de cDNA (a) El DNA humano se corta con una enzima de restricción para crear una serie de fragmentos más pequeños que se clonan en plásmidos. Una biblioteca genómica (humana) consiste en una colección de bacterias que contiene cada una un fragmento diferente de DNA humano. En teoría, todos los fragmentos de DNA del genoma estarán representados en la biblioteca. (b) En una biblioteca de cDNA, el mRNA se convierte en cDNA mediante la enzima transcriptasa inversa. Los linkers que contienen un sitio de restricción se añaden al cDNA para crear extremos cohesivos. El cDNA puede ahora clonarse en un vector plasmídico para su replicación subsiguiente en bacterias.

teriormente, se suele incubar el filtro con una **sonda de DNA,** un fragmento de DNA radiactivo o no radiactivo de una sola cadena complementario al gen de interés, porque puede unir sus pares de bases por enlace de hidrógeno al DNA diana que se desea clonar. La sonda se une a las secuencias complementarias del filtro. Este proceso de unir la sonda se denomina **hibridación.** A continuación, el filtro se lava para eliminar el exceso de sonda sin unir y se expone a una película fotográfica en un proceso llamado **autorradiografía.** En los lugares en los que la sonda se haya unido al filtro, la radiactividad de las sondas radiactivas o la luz (fluorescencia o quimioluminiscencia) emitida por las sondas no radiactivas expone granos de plata en la película. Dependiendo de la abundancia del gen de interés, puede que sólo haya unas pocas colonias (o placas) en el filtro que hibriden en la sonda. Se revela la película para crear un registro permanente llamado autorradiograma (o autorradiografía), que se compara después con la placa original de colonias bacterianas para identificar qué colonias contenían plásmido recombinante con el gen de interés. Estas colonias podrán cultivarse a mayor escala para aislar el DNA clonado.

El tipo de sonda utilizado para visualizar la biblioteca suele depender de lo que ya se conoce sobre el gen de interés. Por ejemplo, la sonda de rastreo con frecuencia es un gen clonado de otra especie. Un clon de cDNA de un gen de rata o ratón a menudo es una sonda muy efectiva para rastrear una biblioteca humana, sea genómica o de

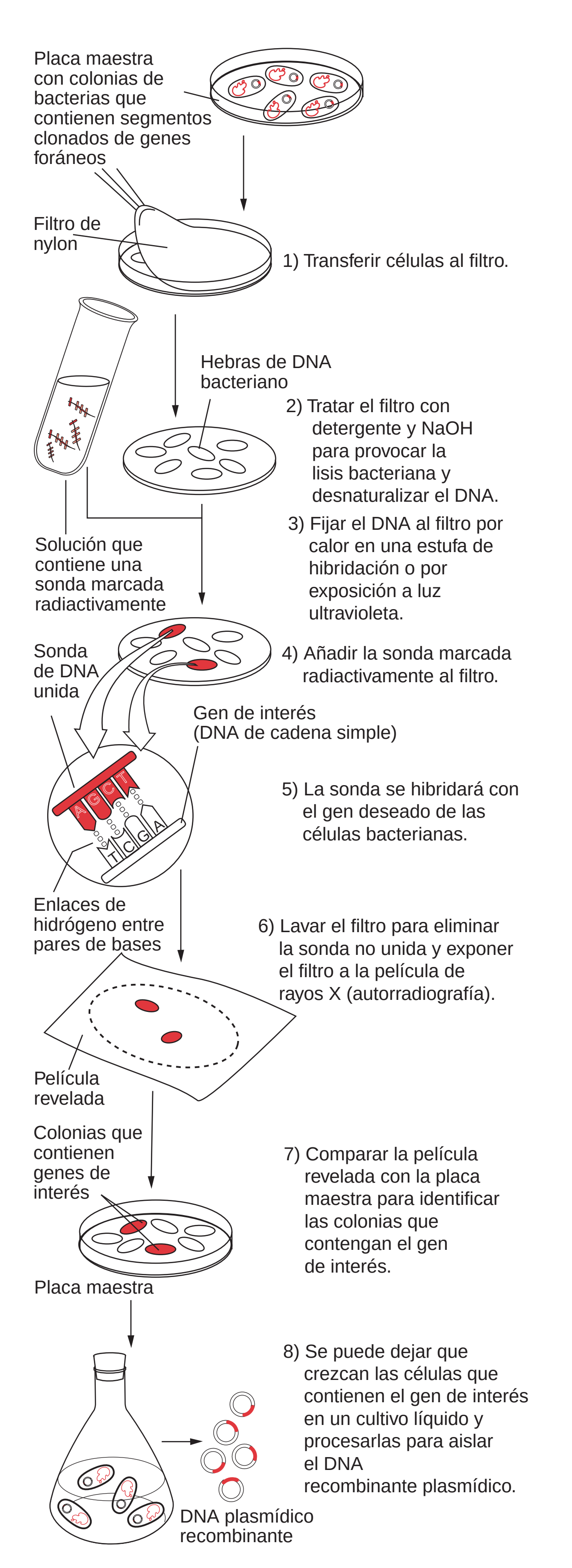


Figura 3.6 Hibridación de colonias: rastreo de la biblioteca con una sonda de DNA para identificar el gen clonado de interés

cDNA, porque muchas secuencias de genes en ratas y ratones son similares a las que se encuentran en los genes humanos. Si el gen de interés no ha sido clonado en otra especie pero existe información sobre la secuencia de proteínas, se puede fabricar una serie de **oligonucleótidos** sintetizados químicamente basándose en una predicción de codones que pueden codificar para la secuencia de proteínas conocida. Si se conoce alguna secuencia parcial de aminoácidos para una proteína codificada por un gen que se va a clonar, es posible «trabajar hacia atrás» y diseñar oligonucleótidos basados en los nucleótidos predichos que codificaban la secuencia de aminoácidos. Además, si hay algún anticuerpo disponible para la proteína codificada por el gen de interés, se puede utilizar una biblioteca de expresión, que da como resultado la expresión de la proteína en las bacterias, y se puede rastrear con el anticuerpo para detectar las colonias que expresen la proteína recombinante.

El rastreo de la biblioteca raramente da como resultado el aislamiento de clones que contienen genes de longitud completa. Es más común obtener clones con pequeños fragmentos del gen de interés (un motivo por el cual esto ocurre con las bibliotecas de cDNA es porque puede ser difícil aislar mRNA de longitud completa o sintetizar cDNA de longitud completa para el gen de interés). Cuando se clonan pequeños trozos de un gen, los científicos secuencian estos trozos y buscan correspondencias entre secuencias. A continuación, se pueden juntar los fragmentos coincidentes de DNA como si se tratara de un puzzle en un intento por reconstruir el gen de longitud completa, lo cual a menudo requiere de un rastreo intensivo y repetido por toda la biblioteca cultivando muchas bacterias y utilizándolas para hibridar colonias. Buscar codones de inicio y de parada (también llamados codones *stop* o de terminación) en las partes secuenciadas es una forma de predecir si se han juntado las piezas del gen entero. Mediante este proceso, los fragmentos coincidentes pueden juntarse para localizar un gen entero.

Más adelante en este capítulo discutiremos cómo las estrategias de secuenciación del tipo *shotgun* (o aleatorias) de todo el genoma posibilitan a los científicos el secuenciar genomas enteros. Debido a los estudios genómicos, las bibliotecas se están convirtiendo en una manera cada vez menos utilizada de identificar y clonar genes. En lugar de utilizar una biblioteca para identificar uno o varios genes a la vez, la genómica hace posible que los científicos identifiquen secuencias para todos los genes en un genoma.

Reacción en cadena de la polimerasa

Aunque las bibliotecas son muy efectivas y muy utilizadas para clonar e identificar un gen de interés, la **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** es un enfoque mucho más rápido para clonar que construir y rastrear una biblioteca. La PCR es, a menudo, la técnica elegida. Desarrollada a mediados de la década de los ochenta del siglo xx por Kary Mullis, la PCR resultó ser una técnica

revolucionaria que ha tenido gran impacto en muchas áreas de la biología molecular. En 1993, Mullis ganó el Premio Nobel de Química por su invento. La PCR es una técnica para hacer copias o amplificar una *secuencia específica* del DNA en un corto período de tiempo. El concepto que hay detrás de una reacción de PCR es increíblemente sencillo. Aquí, se añade el DNA diana que se desea amplificar a un tubo de paredes finas y se mezcla con desoxirribonucleótidos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), solución tampón (o *buffer*) y DNA polimerasa. Se añade a la mezcla una pareja de ***primers.*** Los primers son oligonucleótidos cortos de DNA de cadena simple que suelen tener una longitud de 20 a 30 nucleótidos. Estos *primers,* u oligonucleótidos, son complementarios de los que flanquean los extremos opuestos de la secuencia del DNA diana que se desea amplificar (ver Figura 3.7).

A continuación, el tubo de reacción se coloca en un instrumento llamado termociclador. En esencia, un termociclador es un sofisticado bloque de calentamiento capaz de cambiar la temperatura muy rápidamente en intervalos de tiempo muy breves. El termociclador toma la muestra mediante una serie de reacciones llamadas ciclo de PCR (Figura 3.7). Cada ciclo consiste en tres fases. En la primera, llamada *desnaturalización,* se calienta el tubo de reacción hasta entre 94 °C y 96 °C aproximadamente, causando la separación del DNA diana en cadenas simples. En la segunda fase, llamada *hibridación* (o *anillamiento*), se enfría ligeramente el tubo hasta entre 50 °C y 65 °C, lo que permite que los *primers* (u oligonucleótidos) creen enlaces de hidrógeno con las bases complementarias situadas a extremos opuestos de la secuencia diana. Durante el alargamiento, la última fase del ciclo de PCR, la temperatura se suele elevar un poco (a unos 70 °C o 75 °C) y la DNA polimerasa copia el DNA diana uniéndose a los extremos 3′ de cada cebador (también llamado *primer* u oligonucleótido) utilizando éstos como moldes. La DNA polimerasa añade nucleótidos al extremo 3′ de cada oligonucleótido para sintetizar una cadena complementaria. Al final de cada ciclo, la cantidad de DNA diana se ha duplicado. El termociclador repite estas tres fases de nuevo según el número total de ciclos determinado por el investigador, que suele ser de 20 o 30 ciclos.

Una clave del ciclo es el tipo de DNA polimerasa que se utiliza en la reacción. Los calentamientos y enfriamientos repetidos necesarios para la PCR desnaturalizarían y destruirían la mayoría de las DNA polimerasas después de unos pocos ciclos. Disponemos de varias fuentes de DNA polimerasas adecuadas para el ciclo de PCR. Una de las primeras y más populares enzimas para la PCR es conocida como la ***Taq* DNA polimerasa.** *Taq* se aísla de la *arquea* denominada *Thermus aquaticus,* una especie que prospera en manantiales de agua caliente. Debido a este hábitat al que *T. aquaticus* está adaptada (se descubrió primero en los manantiales de agua caliente del Parque Nacional de Yellowstone), su DNA polimerasa ha evolucionado hasta poder aguantar altas temperaturas (ese tipo de microbios recibe el nombre de *termófilos* por su capacidad

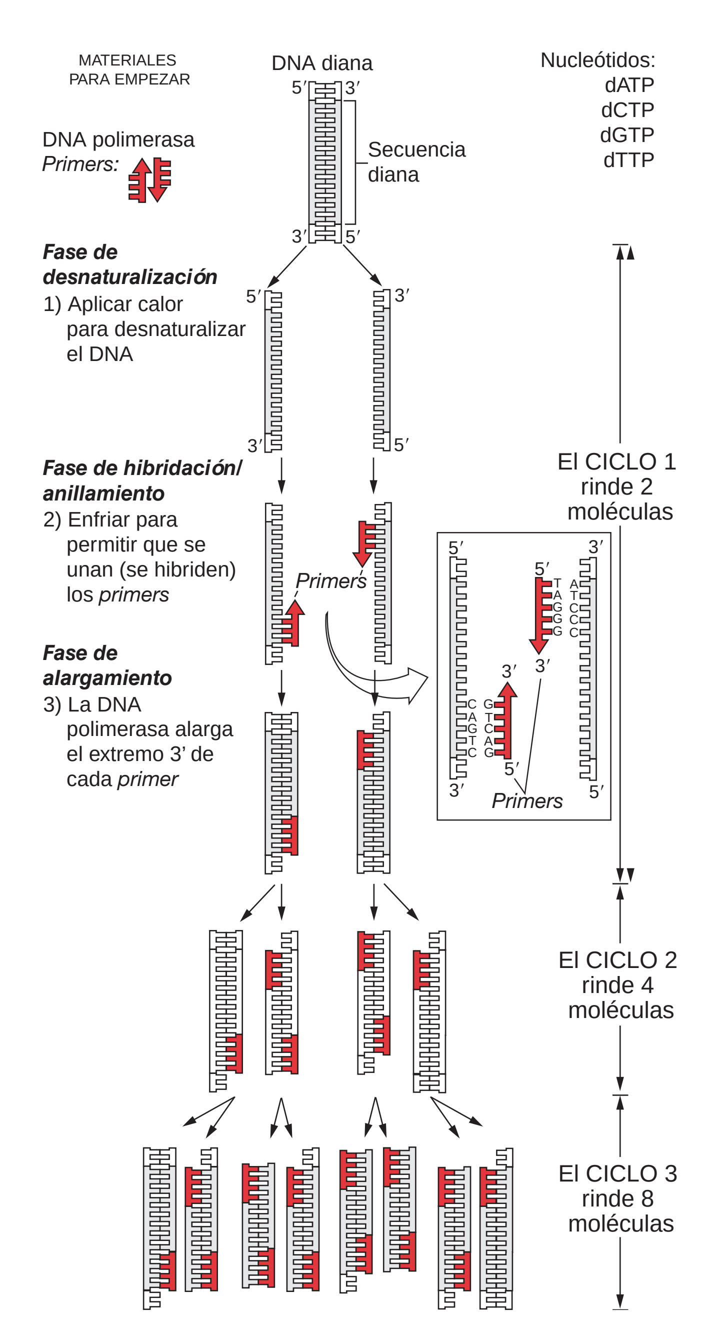


Figura 3.7 La reacción en cadena de la polimerasa

para sobrevivir y prosperar en entornos de calor extremo). Como *Taq* es estable a altas temperaturas, puede aguantar los cambios de temperatura necesarios para el ciclo de PCR sin desnaturalizarse. En 1989, la revista *Science* nombró a la polimerasa de *Taq* Molécula del Año.

La gran ventaja de la PCR es su capacidad para amplificar millones de copias del DNA diana a partir de una cantidad muy pequeña de material inicial en un corto período de tiempo. Como el DNA diana se duplica después de cada ciclo de PCR, después de unos 20 ciclos se



P ¿Cómo determinan los científicos qué secuencias *primer* (o cebadores) y qué condiciones de temperatura deberían utilizarse en un experimento de PCR?

R Diseñar los *primers* o cebadores y elegir las temperaturas adecuadas son parámetros de importancia crítica. Los programas de *software* utilizados para diseñar oligonucleótidos simplifican mucho este proceso, pero incluso con la ayuda de esos programas se deben considerar muchos aspectos tales como:

- Los primers sólo deben unirse a secuencias específicas en la secuencia del DNA diana de interés para evitar que se unan a otras secuencias.
- Las secuencias complementarias para la unión de los cebadores al DNA diana no deben estar muy alejadas unas de otras ni demasiado cerca.
- Los cebadores deben contener las cuatro bases en número aproximadamente similar.
- Evitar que puedan unirse entre sí los primers formando «dímeros de primers» asegurándonos que los pares de primers no tienen nucleótidos de guanina y citosina en sus extremos 3′.

Las secuencias de los primers y los requisitos de la DNA polimerasa que se utiliza en el experimento son los factores que determinan las temperaturas elegidas para un experimento de PCR. La temperatura de desnaturalización está casi siempre en torno a los 94-95 °C para la mayoría de los experimentos, pero seleccionar la temperatura de hibridación correcta es crítico. Si esta temperatura fuera demasiado alta, los cebadores no serán capaces de unirse al DNA diana. Si la temperatura es demasiado baja, puede que los cebadores se unan a segmentos de DNA no específicos, causando la amplificación de secuencias que no son diana. La temperatura de hibridación se determina en gran medida por la composición A + T y G + C de los primers. Los que tengan un alto contenido de pares de bases G + C pueden hibridarse a temperaturas más altas que los que tengan un alto contenido en pares A + T. Las temperaturas ideales de hibridación se calculan con base en los porcentajes de G + C y A + T que tienen los cebadores.

han producido aproximadamente 1 millón de copias (2^{20}) del DNA diana a partir de una sola molécula. Las nuevas aplicaciones de la tecnología de la PCR hacen posible determinar la cantidad de producto PCR que se fabrica durante un experimento mediante una técnica llamada **PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR),** que utiliza oligonucleótidos con moléculas fluorogénicas y termocicladores especializados que permiten a los investigadores cuantificar las reacciones de amplificación a medida que ocurren. Más tarde, pero dentro de este capítulo, seguiremos hablando de la qPCR. Se puede visualizar una clase excelente sobre la PCR en la página web del Centro de Aprendizaje *Cold Spring Harbor DNA Learning Centre* que aparece en la lista de la página web adjunta.

La PCR tiene aplicaciones muy amplias en investigación y medicina, como en la fabricación de sondas de DNA, el estudio de la expresión génica, la amplificación de diminutas cantidades de DNA para detectar patógenos virales e infecciones bacterianas, la amplificación del DNA para diagnosticar enfermedades genéticas, la detección de cantidades traza de DNA en tejidos para resolver un crimen e incluso la amplificación de DNA antiguo a partir de tejido fosilizado de dinosaurios (Figura 3.8). Muchas de estas aplicaciones se describen en otros capítulos.

Clonación de productos de PCR

A menudo se utiliza la PCR en vez del rastreo de bibliotecas para clonar un gen porque es rápido y efectivo (Figura 3.9). Una desventaja de la clonación mediante PCR es que necesitamos saber algo acerca de las secuencias de DNA que flanquean nuestro gen de interés para diseñar los primers. Es más fácil clonar mediante PCR si ya se ha clonado el gen en otra especie, por ejemplo utilizando primers para un gen clonado anteriormente a partir de un ratón que clonar el gen equivalente a partir de un ser humano.

Hay muchas formas de clonar un gen utilizando PCR. Uno de los primeros enfoques implicó el diseño de cebadores para un gen de interés que incluía secuencias de reconocimiento de enzimas de restricción construidas en los cebadores. En esta técnica, se amplifica el gen y se trabaja en la ingeniería de los sitios de restricción en los primers para que digieran los productos de la PCR con una enzima de restricción. Estos productos se ligan en un vector que puede ser utilizado para la secuenciación de DNA. Un enfoque más moderno de la clonación con PCR aprovecha una peculiaridad interesante de las polimerasas termoestables. A medida que se copia el DNA, *Taq* y otras polimerasas utilizadas normalmente para la PCR añaden un solo nucleótido de adenina al extremo 3′ de todos los productos PCR (ver Figura 3.9). Después de amplificar un gen diana, los productos PCR clonados pueden ser ligados en plásmidos llamados vectores T. Éstos contienen un nucleótido de timina de cadena simple a cada extremo que puede unir pares de bases complementariamente con los nucleótidos de adenina que hay por encima en los productos de la PCR. Una vez ligado en un vector T, el plásmido recombinante que contiene el producto PCR clonado puede ser introducido en las bacterias por transformación y se puede determinar su secuencia de nucleótidos.

Ahora ya has aprendido algunas de las estrategias más habituales que se utilizan para clonar genes. En la siguiente sección, consideramos un amplio abanico de enfoques diferentes que usan los científicos para estudiar los genes clonados.

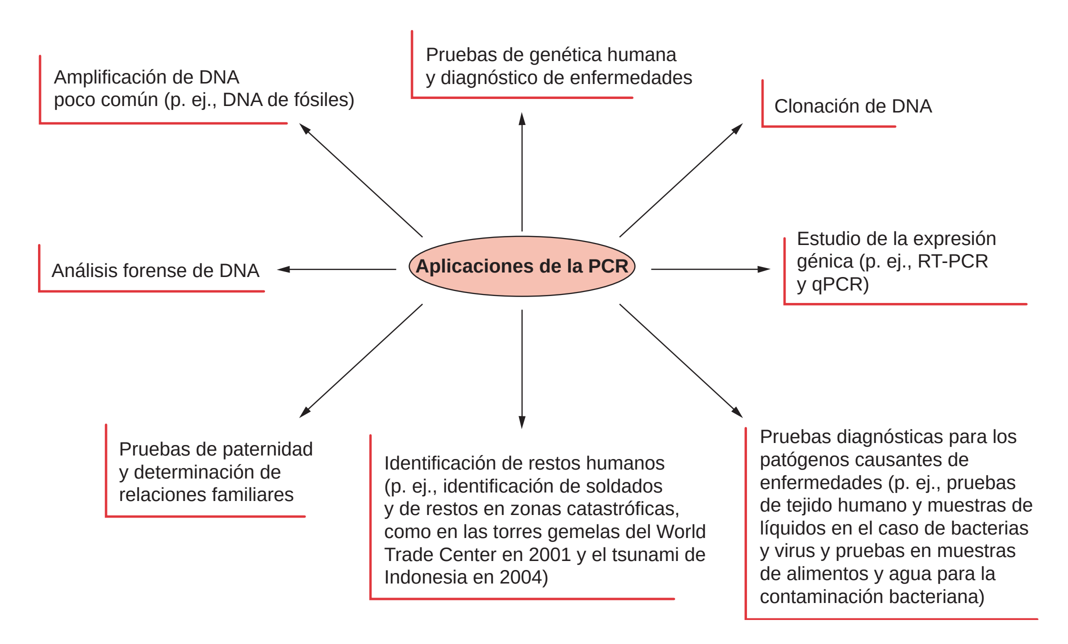


Figura 3.8 Aplicaciones de la PCR La amplificación del DNA mediante PCR se ha convertido en una técnica esencial en biología molecular con un gran espectro de aplicaciones diferentes. Algunas de las más comunes relacionadas con la biotecnología se han representado en esta figura.

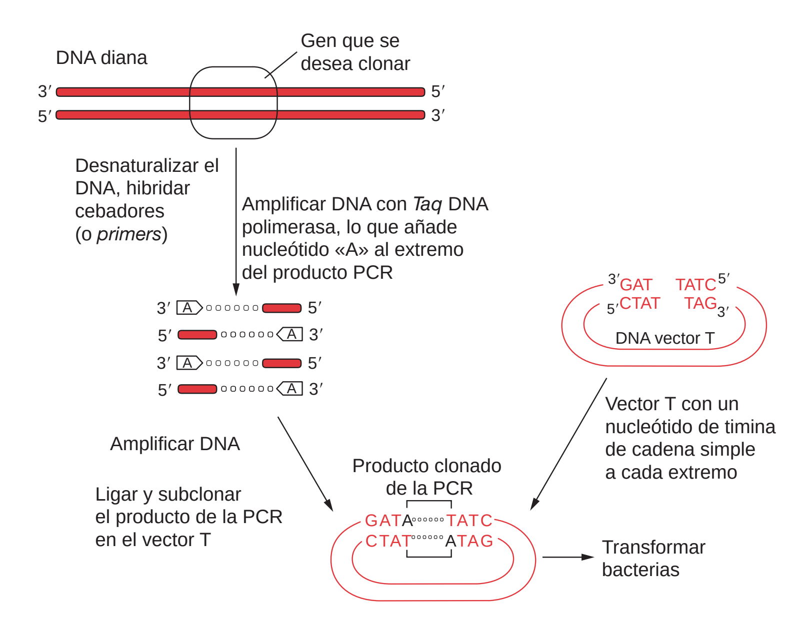


Figura 3.9 Clonación de un gen mediante PCR

3.4 ¿Qué se hace con un gen clonado? Aplicaciones de la tecnología del DNA recombinante

¿Por qué clonar DNA? ¿Qué se puede hacer con un gen clonado? Hay numerosas aplicaciones de la clonación de genes y de la tecnología del DNA recombinante. La Figura 3.10 resume las aplicaciones más comunes de la clonación de genes, muchas de las cuales se tratan en otros capítulos. En esta sección presentamos algunas de las primeras aplicaciones más importantes de la clonación de genes.

Electroforesis en gel y mapeo de la estructura genética con enzimas de restricción

Normalmente, después de haber clonado un gen se construye algún tipo de mapa físico del mismo para determinar tanto qué enzimas de restricción cortan el gen clonado como la ubicación de estos sitios de corte. Es muy útil conocer el **mapa de restricción** de un gen para fabricar clones a partir de trozos pequeños del mismo (lo que se denomina *subclonación*) y para manipular muchos fragmentos relativamente pequeños de DNA (por ejemplo, de 100 a 1.000 pb) para secuenciar el DNA y preparar sondas de DNA para estudiar la expresión génica.

Para crear un mapa de restricción, el DNA clonado se somete a una serie de digestiones simples con enzimas de restricción, así como digestiones dobles con enzimas combinadas. Después, los investigadores utilizan **electroforesis en gel de agarosa** (ver Figura 3.11a), una técnica común en biología molecular, para separar y visualizar los fragmentos de DNA basándose en el tamaño. Finalmente, el patrón de fragmentos creado por las digestiones se analiza para construir el «mapa». La agarosa es un material que se aísla de las algas, fundido en una solución tampón (o *buffer*) y vertido en una bandeja de plástico. A medida que se enfría la agarosa, se solidifica formando un gel semisólido horizontal que tiene agujeritos o poros a través de los cuales viajarán los fragmentos de DNA. El porcentaje de agarosa utilizada para crear el gel determina su capacidad para resolver los fragmentos de DNA de diversos tamaños. La mayoría de las aplicaciones suelen implicar geles que contienen de 0,5 a 2 por ciento de agarosa. Un gel con un alto porcentaje de agarosa (un 2 por ciento, por ejemplo) tiene mejores cualidades para separar pequeños fragmentos de DNA porque se abrirán paso a través de los poros más fácilmente que los frag-

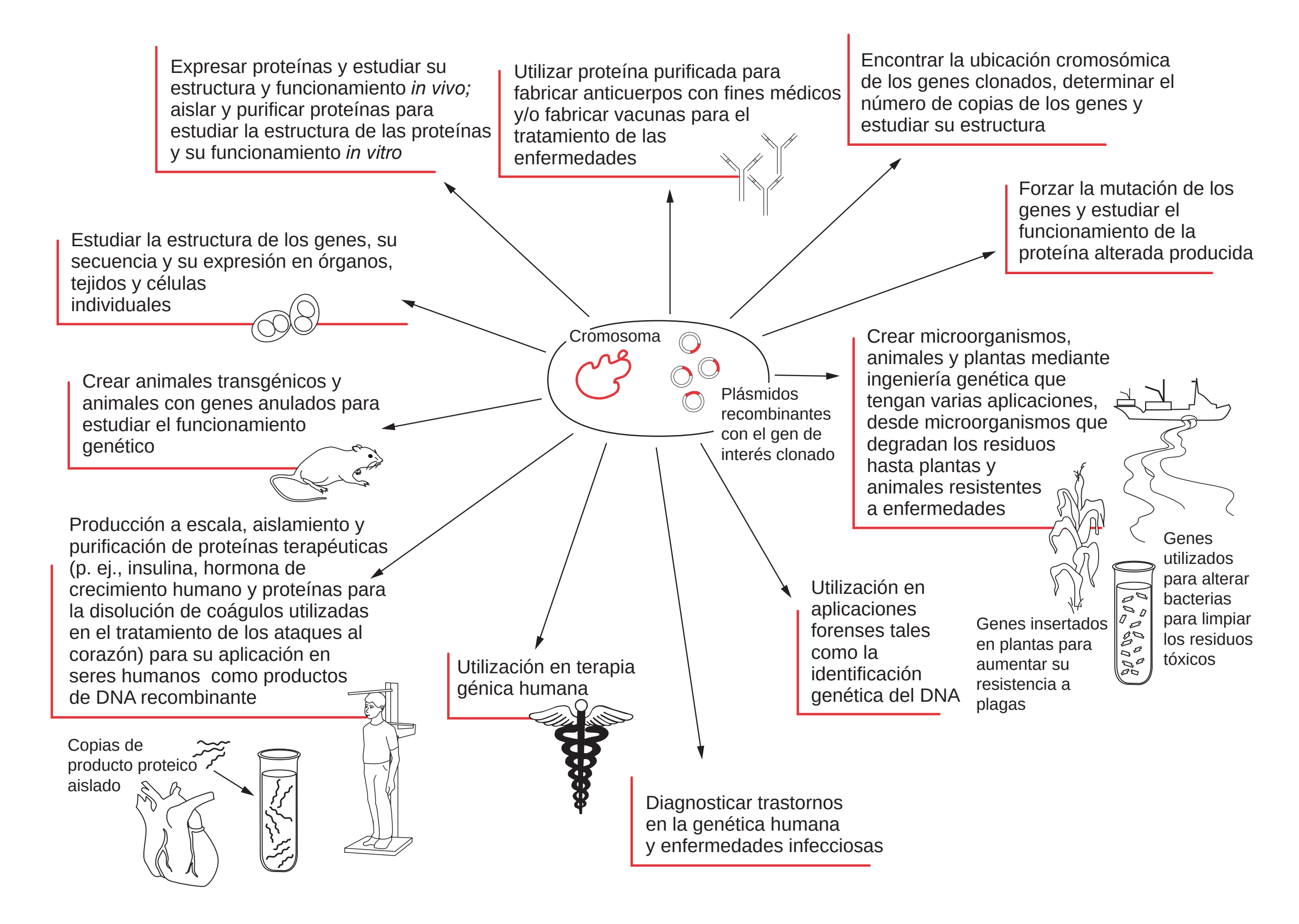


Figura 3.10 Aplicaciones de la tecnología del DNA recombinante



TÚ DECIDES

¿Patentar o no patentar?

El Proyecto del Genoma Humano se completó antes de lo previsto en parte debido a la competencia entre los centros de investigación del genoma que contaban con fondos públicos y las empresas con capital privado, como Celera Genomics, dirigida en su origen por el anterior investigador del NIH (Instituto Nacional de la Salud) Craig Venter. Durante su permanencia en el Instituto para la Investigación del Genoma (Institute for Genomic Research, o TIGR, por sus siglas en inglés), Venter y sus compañeros fueron los primeros científicos en secuenciar el genoma de un organismo viviente, la bacteria *Haemophilus influenzae*. Este grupo solicitó las patentes de la secuencia de nucleótidos de *H. influenzae* y de la tecnología bioinformática utilizada para analizar este genoma.

Con anterioridad, Venter y sus compañeros describieron un conjunto de experimentos en el que clonaban aleatoriamente fragmentos cortos de cDNA procedentes de células cerebrales humanas. Estas secuencias cortas, denominadas **marcadores de secuencia expresada (EST)**, podrían utilizarse teóricamente como sondas para identificar toda la longitud de un cDNA. Algunos de los EST de Venter resultaron ser idénticos a genes ya clonados o a porciones de un gen; otros parecían ser nuevas secuencias de genes o DNA basura o no codificante. Esperando obtener los derechos de propiedad de los genes completos que se podrían identificar a partir de los EST de Venter, el TIGR solicitó una patente. Esta solicitud generó una enorme polémica.

¿Se debería permitir a los científicos patentar secuencias de DNA de organismos vivos de la naturaleza? ¿Qué sucede si se otorga una patente para sólo pequeños *fragmentos* de un gen –aunque se desconozca lo que hace una secuencia de DNA– por el mero hecho de que algunas personas o una empresa quieran una patente para reivindicar que han sido los primeros en clonar un trozo de DNA? ¿Qué pasa si no hay una utilidad clara de las secuencias de DNA clonadas? ¿Se puede o se debe permitir a los investigadores que utilizan un chip de DNA o que han construido una biblioteca de DNA que patenten el genoma completo de cualquier organismo que hayan estudiado?

Cuando se otorga una patente, los científicos suelen tener sobre la información patentada un monopolio de dos décadas desde la fecha de solicitud de la patente. Muchos creen que el acaparar información sobre el genoma va contra la tradición de compartir información para que la ciencia pueda avanzar. ¿El proceso de concesión de patentes podría ralentizar los avances en la clonación de genes si los grupos acaparasen los datos y no compartieran información? ¿Podría o debería un grupo reivindicar sus derechos sobre un gen, impidiendo por tanto a otros trabajar o desarrollar productos a partir de él?

Desde 1980, la Oficina de Patentes y Marcas Registradas de los Estados Unidos ha concedido patentes sobre más de 20.000 genes o secuencias de genes y se estima que se ha patentado el 20% de los genes, humanos. A algunos científicos les preocupa que conceder patentes simplemente por clonar un trozo de DNA es obtener una patente por un muy poco trabajo. Dado que los ordenadores hacen la mayor parte del trabajo rutinario de la secuenciación del genoma, ¿quién debería obtener la patente? ¿Y qué hay de las personas que descubran *para qué* sirve ese gen? ¿Se debería patentar a un organismo vivo obtenido por ingeniería genética? Se han patentado bacterias obtenidas por ingeniería genética (por ejemplo, las que se utilizan para limpiar la contaminación ambiental) y animales transgénicos, así como genes de importancia clínica como el interferón beta. ¿Puede un grupo reivindicar con antelación sus derechos sobre los usos futuros de un gen, aunque no haya datos para apoyar esos derechos? ¿Qué sucedería si una secuencia de genes estuviera relacionada con una enfermedad para la que se podría desarrollar una terapia génica? ¿Cuál es la mejor manera de utilizar esta información para el avance de la medicina y la curación de enfermedades?

Muchos científicos creen que mejor que patentar las propias secuencias de los genes, es más adecuado patentar la nueva tecnología utilizada para descubrir y estudiar los genes así como las aplicaciones de la tecnología genética, tales como los enfoques de las terapias génicas. Se han otorgado algunas patentes sobre la tecnología, aunque el criterio para establecer lo que es una tecnología nueva está, en el mejor de los casos, poco claro.

Desde el punto de vista comercial, una ventaja de las patentes es que proporciona a las empresas privadas un incentivo para llevar al mercado una medicina o una tecnología. Al mismo tiempo, esto puede ralentizar los avances en la cura de una enfermedad al encarecer el tratamiento. ¿Patentar o no patentar? Tú decides.

mentos grandes, que no se separan bien a través de un gel denso. Para separar grandes fragmentos de DNA es mejor utilizar porcentajes más bajos de agarosa.

Para correr un gel, se sumerge en una solución tampón que conducirá carga eléctrica. Las muestras de DNA se cargan en pequeñas depresiones del gel denominadas *pozos.* A continuación, se aplica una corriente eléctrica entre los electrodos situados en los extremos opuestos del gel. La separación del DNA mediante electroforesis se basa en el hecho de que el DNA migra por el gel según su carga y tamaño (en pares de bases). El eje azúcar fosfato produce DNA cargado negativamente; por lo tanto, cuando el DNA se coloca en un campo eléctrico, migra hacia el ánodo (el polo positivo) y es repelido por el cátodo (el polo negativo). Como todo el DNA tiene carga negativa, independientemente de la longitud o del origen, la tasa de migración y separación del DNA por el gel de agarosa depende del *tamaño* de la molécula. Dado que la distancia de migración es inversamente proporcional al tamaño de un fragmento de DNA, los fragmentos lar-

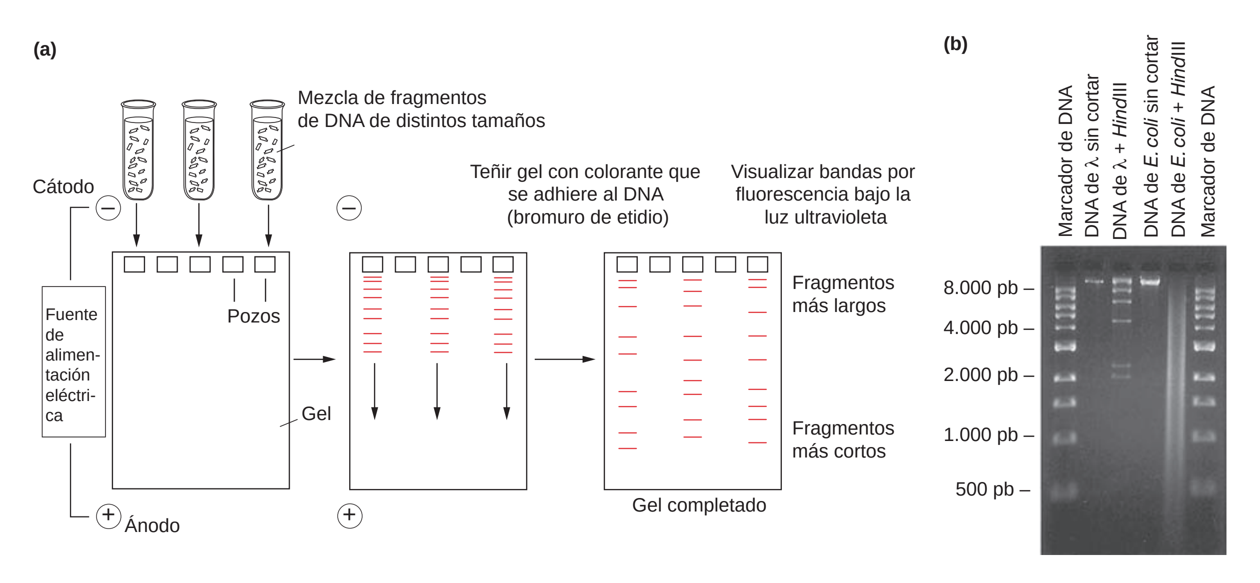


Figura 3.11 Electroforesis en gel de agarosa (a) Los fragmentos de DNA se pueden separar y visualizar mediante electroforesis en gel de agarosa. (b) Fotografía de un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. Los carriles etiquetados como «Marcador de DNA» se cargaron con DNA de tamaño estándar preparado comercialmente, que sirven de escalera de fragmentos de tamaño conocido y que se utilizan para determinar el tamaño de las muestras experimentales del DNA que se está analizando. El carril etiquetado como «DNA de λ sin cortar» muestra DNA cromosómico sin cortar de alto peso molecular del fago λ; «DNA de λ + *Hin*dIII» muestra una serie de fragmentos discretos creados cuando se digiere DNA de λ con la enzima de restricción *Hin*dIII. El carril etiquetado como «DNA de *E. coli* sin cortar» contiene DNA cromosómico sin digerir y el carril adyacente muestra DNA cromosómico de *E. coli* digerido con *Hin*dIII (DNA de *E. coli* + *Hin*dIII). Observa cómo el DNA de *E. coli* + *Hin*dIII produce un corrimiento de bandas, a diferencia del discreto conjunto de fragmentos visualizado con el DNA de λ digerido con *Hin*dIII. Este corrimiento se debe al gran tamaño del cromosoma de *E. coli* y al gran número de sitios de corte de *Hin*dIII; se crean tantos fragmentos que no es posible visualizar bandas discretas.

gos de DNA se desplazan distancias cortas por el gel y los fragmentos cortos de DNA se mueven más rápidamente por el gel.

Se añaden colorantes marcadores para controlar la migración del DNA durante la electroforesis. Al acabar el tiempo deseado de electroforesis, el DNA que hay en el gel se tiñe utilizando colorantes como el **bromuro de etidio,** que se intercala (penetra) entre los pares de bases del DNA. Estos colorantes se vuelven fluorescentes cuando se exponen a la luz ultravioleta. Se obtiene un registro permanente del gel fotografiándolo mientras está expuesto a la luz ultravioleta (ver Figura 3.11b).

Una vez que las muestras de DNA se han digerido, separado y visualizado mediante electroforesis en gel, construir el mapa de restricción es como unir las piezas de un puzzle. Como se ilustra en la Figura 3.12, los investigadores pueden, comparando los fragmentos de DNA digeridos una vez con cada fragmento doblemente digerido, disponerlos en el orden correcto para crear un mapa de los sitios de restricción. En la actualidad, como la secuenciación de DNA, incluso de trozos relativamente pequeños, se ha convertido en una técnica bastante común, a menudo se puede hacer un mapeo de restricción mediante *software* bioinformático (como Webcutter, descrito en la cuestión 8 de Preguntas y Actividades al final de este ca-

DNA no cortado
DNA cortado con *Bam*HI
DNA cortado con *Pst*I
DNA cortado *Bam*HI + *Pst*I
Tamaño del fragmento (kb)
7,0
5,5
4,5
3,0
2,5
1,5
Mapa de restricción
*Bam*HI
*Pst*I
0
2,5 kb
5,5 kb
7,0 kb

Figura 3.12 Mapeo de restricción La ubicación de los sitios de restricción para *Bam*HI y *Pst*I se determina en un fragmento de DNA de 7 kb de longitud. La digestión con *Bam*HI divide el DNA en dos fragmentos que miden 2,5 y 4,5 kb, indicando que el DNA se cortó en un solo sitio localizado a 2,5 kb de un extremo. La digestión con *Pst*I divide el DNA en dos fragmentos a 1,5 y 5,5 kb, indicando que el DNA se cortó en un solo sitio localizado a 1,5 kb de un extremo. Una digestión doble con las dos enzimas divide el DNA en tres fragmentos, de 3,0 kb, de 2,5 kb y de 1,5 kb. Como el fragmento de 3,0 kb no ha sido creado solamente por la digestión de *Bam*HI ni por la de *Pst*I, debe representar el DNA situado entre los sitios de corte de BamHI y de *Pst*I. Ordenando este «puzzle» de fragmentos, el mapa de restricción al final de la figura es el único mapa coherente con el patrón de fragmentos creado por las digestiones en este experimento.

pítulo) para identificar los sitios de corte de restricción en una secuencia de DNA sin necesidad de digerir el DNA en realidad y crear un mapa de forma experimental.

Secuenciación de DNA

Una vez que se ha clonado el DNA, es importante determinar la secuencia de nucleótidos del gen, su orden exacto en clave de A, G, T y C. Conocer la secuencia de DNA de un gen puede ser útil para (1) deducir la secuencia de aminoácidos de una proteína codificada por un gen clonado, (2) determinar la estructura exacta del gen, (3) identificar los elementos de regulación, tales como las secuencias del promotor, (4) identificar las diferencias entre genes creados por empalme (también llamado *splicing*) de genes y (5) para identificar mutaciones genéticas. Hoy están disponibles muchos métodos diferentes para la **secuenciación de DNA,** incluyendo técnicas para secuenciar los «ciclos» de la PCR y secuenciación automática de DNA por ordenador. Originalmente, el método más ampliamente utilizado era la secuenciación por terminación de cadena, un método manual desarrollado en 1977 por Frederick Sanger y a menudo conocido como el método Sanger. En esta técnica, un cebador de DNA se hibrida con un molde de DNA desnaturalizado, como un plásmido que contiene DNA clonado para ser secuenciado, en un tubo de ensayo que contenga desoxirribonucleótidos y DNA polimerasa. Debido a que muchos vectores plasmídicos modernos se diseñan con sitios de unión del cebador de secuenciación que están adyacentes al sitio de clonación múltiple, la DNA polimerasa puede utilizarse para extender una cadena complementaria desde el extremo 3′ de los cebadores hibridados al plásmido. El método original utilizaba secuencias de cebadores marcados con radiactividad.

Una pequeña cantidad de un nucleótido modificado llamado **didesoxirribonucleótido (ddNTP)** se mezcla con el vector, el cebador, la polimerasa y los desoxirribonucleótidos. Un ddNTP se diferencia de un desoxirribonucleótido normal (dNTP) en que tiene un grupo hidrógeno unido al carbono 3′ del azúcar desoxirribosa en lugar de un grupo hidroxilo OH (ver Figura 3.13a). Cuando se incorpora un ddNTP en una cadena de DNA, la cadena no puede alargarse porque la ausencia de un 3′-OH evita la formación de un enlace fosfodiéster con un nucleótido nuevo; de ahí se dice que la cadena está «terminada».

Se disponen cuatro tubos de ensayo por separado. Cada tubo contiene vector, cebador y los cuatro dNTP, pero también una pequeña cantidad de un ddNTP. En cuanto comienza la síntesis de una nueva cadena de DNA del cebador, la DNA polimerasa inserta aleatoriamente un ddNTP en la secuencia en lugar de un dNTP normal, evitando que se sintetice una cadena complementaria. Con el tiempo, habrá un ddNTP incorporado en todas las posiciones en las cadenas de nueva síntesis creando una serie de fragmentos de longitudes variadas que terminan en residuos didesoxi. En la técnica original de Sanger, las cadenas de DNA se separaban en un gel muy delgado de poliacrilamida, capaz de separar secuencias cuya longitud se diferencia en un solo nucleótido. Se utilizaba la autorradiografía para detectar los fragmentos de secuenciación radiactiva, como muestra la Figura 3.13c. La secuencia determinada a partir de la autorradiografía se «leía» de abajo arriba por nucleótidos individuales. En la misma Figura 3.13c se ve cómo la secuencia determinada a partir de la autorradiografía es *complementaria* a la secuencia de la cadena molde en el vector.

Debido a limitaciones al correr el gel de secuenciación, el método Sanger original sólo se puede utilizar para secuenciar de 200 a 400 nucleótidos aproximadamente en una sola reacción; por tanto, cuando se secuenciaba un fragmento más largo de DNA, por ejemplo, de 1.000 pares de bases, era necesario correr reacciones múltiples para crear secuencias superpuestas que podían trocearse de manera conjunta para determinar la secuencia entera y continua de 1.000 pares de bases.

Debido a esta limitación, el enfoque original de secuenciación de Sanger es un método incómodo y engorroso para cualquier esfuerzo de secuenciación a gran escala, como los del Proyecto del Genoma Humano. El proyecto se terminó antes de lo previsto en parte debido al desarrollo de **métodos de secuenciación de DNA automatizados por ordenador,** capaces de secuenciar largos fragmentos de DNA (más de 500 pb en una sola reacción). Las reacciones de secuenciación así realizadas utilizan ddNTP, cada uno etiquetado con un colorante fluorescente no radiactivo de distinto color, o bien un cebador de secuenciación etiquetado en su extremo 5′ con un marcaje colorimétrico (Figura 3.13). Se usa un solo tubo de ensayo y el enfoque original utilizando geles de poliacrilamida seguido de la autorradiografía se ha sustituido por la separación de las reacciones de secuenciación, en un solo carril, de un gel de tubo de diámetro ultrafino denominado *gel capilar.* A medida que los fragmentos de DNA se mueven por el gel, son escaneados con un rayo láser. El láser estimula el colorante fluorescente de cada fragmento de DNA, que emite distintas longitudes de onda de luz para cada ddNTP. Un detector recoge la luz emitida amplificándola y suministra esta información a un ordenador para que la procese y, convirtiendo los patrones de luz, pueda revelar la secuencia de DNA.

Los secuenciadores automatizados de DNA a menudo contienen muchos geles capilares de alrededor de un metro de longitud, lo cual permite separar muchas bases. Como resultado, algunos instrumentos corren hasta 96 geles capilares, cada uno produciendo secuencias de alrededor de 900 bases. Con estos instrumentos es posible generar secuencias de aproximadamente 2 millones de bases en un día.

Hay varios grupos diferentes en todo el mundo que están trabajando en los métodos de secuenciación de próxima generación diseñados para generar secuencias de DNA de alta precisión y gran longitud, de más de 1 gigabase (mil millones de bases) de DNA por reacción a un

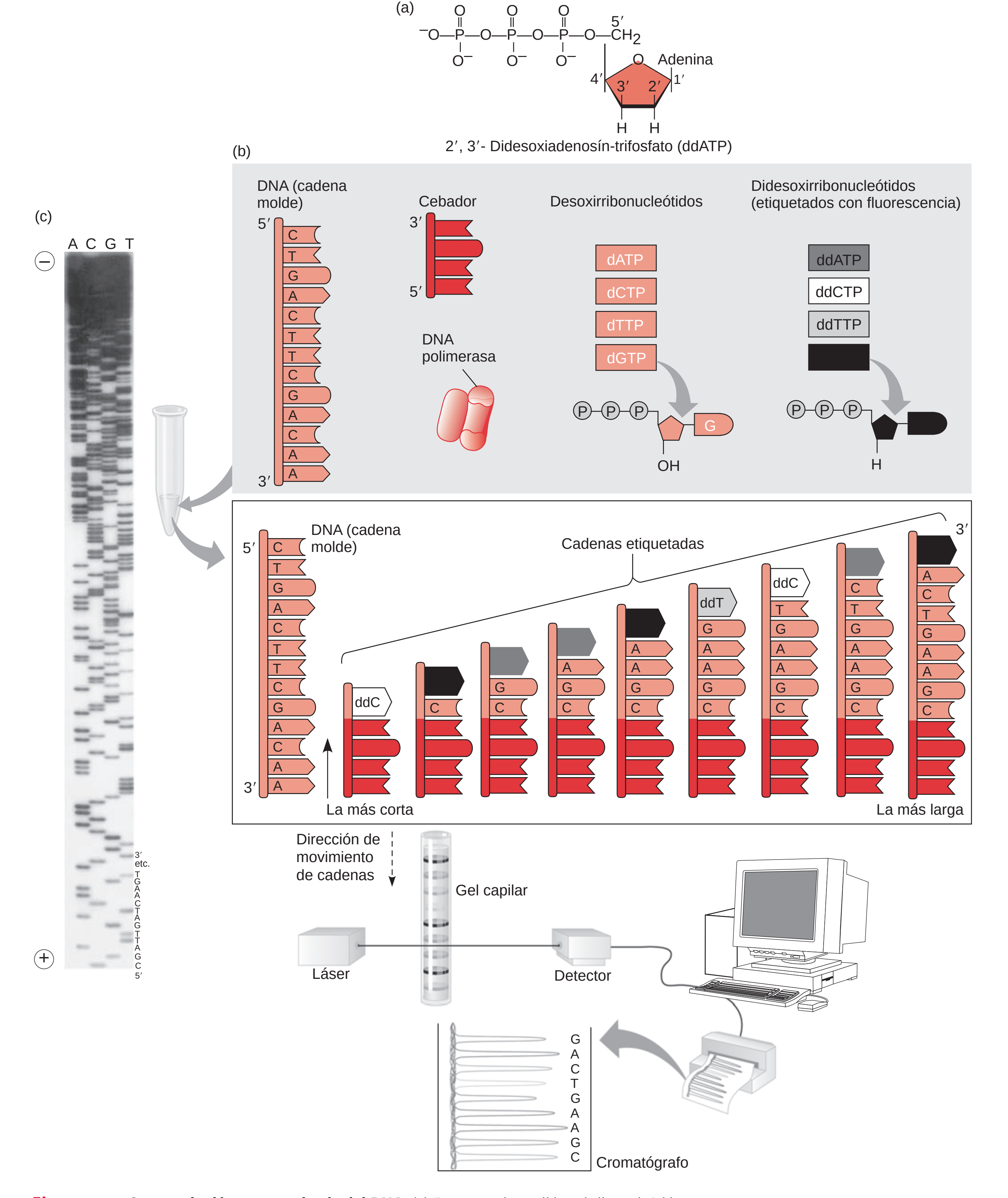


Figura 3.13 **Secuenciación automatizada del DNA** (a) Estructura de un didesoxirribonucleótido (ddNTP). Observa que el grupo 3′ unido al carbono es un hidrógeno en vez de un grupo hidroxilo (OH). Como no se puede unir otro nucleótido al extremo 3′ de un ddNTP, estos nucleótidos son clave para secuenciar el DNA siguiendo el método Sanger, como se muestra en (b). Los métodos automatizados por ordenador separan los fragmentos de DNA utilizando un gel capilar. Se utilizan un láser y un detector para detectar la fluorescencia de cada didesoxinucleótido. (c) Autorradiografía de un gel de secuenciación por el método didesoxi. Las letras que hay sobre los carriles (A, C, G y T) corresponden al didesoxinucleótido concreto utilizado en la reacción de secuenciación analizada en el carril.

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Enzimas de restricción

Las enzimas de restricción son poco más que unas «tijeras» sofisticadas que utilizan los biólogos moleculares para manipular el DNA. El trabajo con las enzimas de restricción se ha simplificado en los últimos 30 años desde que Hamilton Smith y otros las utilizaron por primera vez. Los científicos ya no tienen que purificar sus propias enzimas a partir de bacterias ni preparar sus propias soluciones tampón para trabajar con las enzimas de restricción. Existen más de 300 enzimas de restricción disponibles comercialmente a precios bastante asequibles debido a que muchas han sido clonadas utilizando la tecnología del DNA recombinante, pudiendo así fabricarlas y aislarlas en grandes cantidades. Las enzimas preparadas para su venta vienen preempaquetadas con tamaños adecuados y con soluciones tampón que proporcionan todos los componentes necesarios para una actividad enzimática óptima. Si los investigadores necesitan trabajar con una enzima con la que no estén familiarizados, pueden utilizar la base de datos de enzimas de restricción REBASE (http://rebase.neb.com/rebase/rebase.html), una herramienta estupenda para localizar proveedores de enzimas y productos enzimáticos específicos.

Además, hay a disposición de los científicos varios paquetes de *software* y páginas web para ayudarles a trabajar con enzimas de restricción y secuencias de DNA. Por ejemplo, imagina que eres un biólogo o una bióloga molecular que acaba de clonar y secuenciar un fragmento de DNA de 7.200 pb y deseas ver si hay una enzima que cortaría tu gen para crear un fragmento de DNA de 250 pb y fabricar una sonda con él. No hace mucho, si tenías un montón de enzimas en tu congelador, podías digerir este DNA y correr geles para ver si podías conseguir un fragmento de 250 pb, pero con este método tan impreciso se tardaba mucho tiempo y precisaba de muchos recursos. Si habías secuenciado tu gen, podías escanear la secuencia con tus ojos buscando un sitio de restricción de interés; ¡un esfuerzo que consumía mucho tiempo y desgastaba la vista! Internet vuelve esta tarea mucho más fácil porque muchas páginas web funcionan como herramientas online para analizar sitios de corte de enzimas de restricción. Por ejemplo, en Webcutter (http://rna.lundberg.gu.se/cutter2/), se pueden introducir y buscar las secuencias de DNA para determinar patrones de corte de las enzimas de restricción (ver la cuestión 8 de Preguntas y Actividades).

La amplia aplicación de las técnicas del DNA recombinante en muchas áreas de investigación biológica y médica ha motivado la publicación de cientos de libros, revistas y páginas web sobre estas técnicas. En Biotechniques (www.BioTechniques.com), una popular revista mensual, los biólogos publican y comparten información sobre técnicas de clonación molecular. Se proporcionan varios sitios de uso común para el diseño de cebadores PCR y otras aplicaciones en Keeping Current: vínculos web en la web adjunta.

coste bajo. Estas secuencias realizan la amplificación del DNA sin clonarlo en bacterias y utilizan las reacciones de secuenciación del DNA que no implican las técnicas de terminación de cadena en las que Sanger fue pionero. Algunas de esas técnicas utilizan la DNA ligasa para unir el DNA a unas microesferas, amplificándolo la PCR y uniéndolo después a oligonucleótidos teñidos. A continuación, un ordenador realiza un análisis de los patrones de unión y determina la secuencia. Hay que estar al tanto de la nueva generación de secuenciadores de alta resolución que se espera que lleguen al mercado en los próximos 2-3 años.

Localización cromosómica y número de copias del gen

Cuando se clona un nuevo gen, a menudo deseamos identificar la localización cromosómica del gen y determinar si el gen está presente como una copia única en el genoma o si existen múltiples copias del gen.

Hibridación fluorescente *in situ*

Se puede utilizar una técnica llamada **hibridación fluorescente *in situ*** (**FISH;** *in situ* significa «en ese lugar») para identificar qué cromosoma contiene un gen de interés. Por ejemplo, si acabas de clonar un gen humano que se cree que está implicado en la inteligencia, con la ayuda de la FISH podrías determinar en qué cromosoma reside este gen. En la FISH, los cromosomas se aíslan de células como los leucocitos y se extienden sobre un portaobjetos de cristal para microscopio. Se marca químicamente con nucleótidos fluorescentes una sonda de cDNA para el gen de interés y después se incuba en solución con el portaobjetos. La sonda se hibrida con secuencias complementarias sobre el portaobjetos. Éste se lava y, a continuación, se expone a la luz fluorescente. Cuando la sonda se ha unido a un cromosoma, la sonda marcada con fluorescencia se iluminará indicando la presencia de ese gen (Figura 3.14).

Para determinar cuál de los 23 cromosomas humanos muestra fluorescencia, se alinean según la longitud y los patrones de tinción de sus cromátidas para crear un cariotipo. El que haya fluorescencia en más de un cromosoma indica copias múltiples del gen o secuencias relacionadas que pueden ser parte de una familia de genes. También se utiliza la FISH para analizar trastornos genéticos. Por ejemplo, se puede realizar un análisis FISH en un cariotipo de cromosomas fetales en una mujer embarazada para determinar si un feto en desarrollo tiene un número anormal de cromosomas.

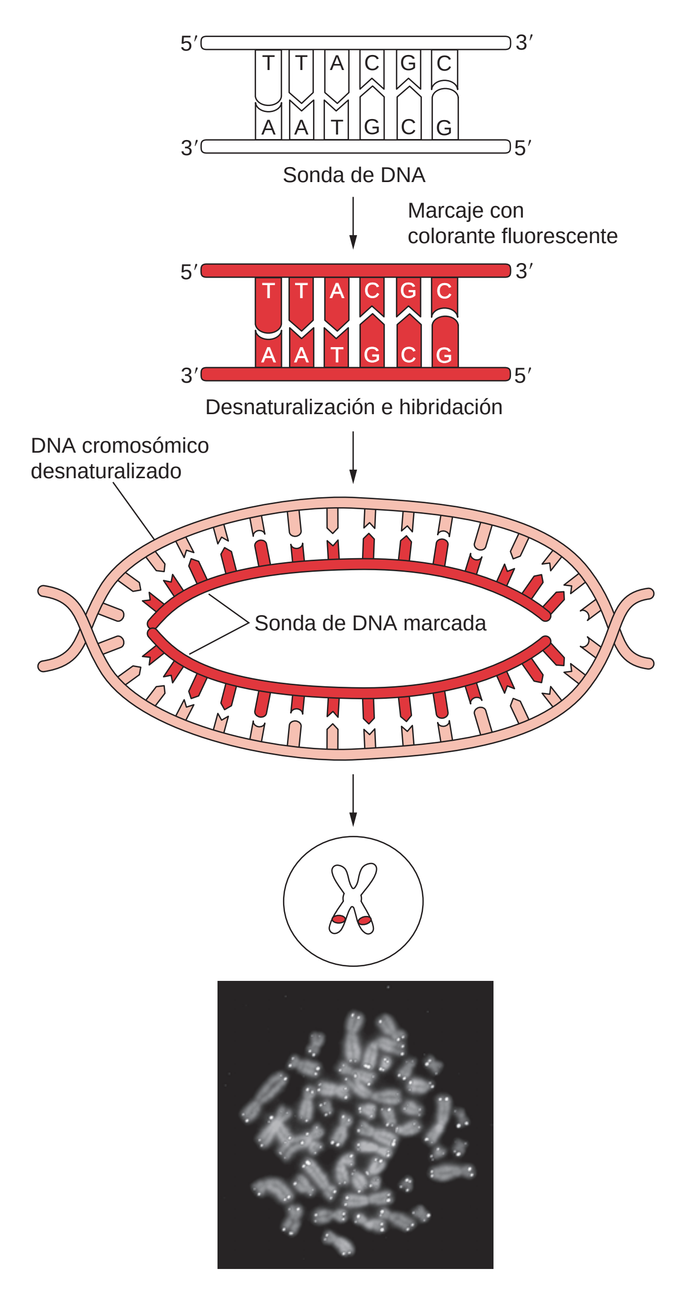


Figura 3.14 Hibridación fluorescente *in situ*
Las manchas blancas en la punta de cada cromosoma indican fluorescencia de una sonda que se une a los telómeros.

Transferencia *Southern*

Se utiliza frecuentemente otra técnica, llamada **análisis *Southern blot*** (transferencia Southern, hibridación Southern o, simplemente, *Southern blot*) para determinar el número de copias de un gen. Desarrollada por el biólogo inglés Edwin Southern en 1975, la transferencia Southern comienza por la digestión del DNA cromosómico en pequeños fragmentos con enzimas de restricción. Los fragmentos de DNA se separan mediante electroforesis en gel de agarosa (Figura 3.15). Sin embargo, el número de fragmentos de restricción generados por la digestión del DNA cromosómico a menudo es tan grande que simplemente correr un gel y teñir el DNA no descubre los fragmentos discretos. Más bien, lo que ocurre es que el DNA digerido aparece como un corrimiento de fragmentos en el gel. La transferencia Southern se utiliza para visualizar sólo fragmentos *específicos* de interés. Después de la electroforesis, se trata el gel con una solución alcalina para desnaturalizar el DNA y, posteriormente, se transfieren los fragmentos a una membrana de nylon o de nitrocelulosa utilizando una técnica denominada *blotting* (transferencia).

Esta transferencia se consigue construyendo una especie de sandwich en el que el gel se coloca debajo de la membrana de nylon, papel filtrante, toallitas de papel y un peso para que se absorba una solución salina a través del gel que transferirá el DNA hacia el nylon por capilaridad (Figura 3.15). Alternativamente, se pueden utilizar papeles secantes de presión o de vacío para transferir el DNA hacia el nylon. Después, se aplica calor al nylon con el DNA transferido en una estufa de hibridación o se expone brevemente a la luz ultravioleta para adherir el DNA permanentemente. Ahora que el DNA está unido a la membrana de nylon como soporte sólido, se incuba con una sonda radiactiva (o con una sonda marcada sin radiactividad) del mismo modo que se realizan las hibridaciones de las colonias. Se lava el compuesto resultante (*blot*) para eliminar el exceso de sonda y después se expone a una película por autorradiografía. Si la sonda se ha unido al compuesto resultante (es decir, al *blot*), la radiactividad presente en ella revela granos de plata en la película que muestran bandas en la membrana, creando una autorradiografía (ver Figura 3.15). Interpretando el número de bandas de la autorradiografía, se puede determinar el número de copias del gen.

El desarrollo del análisis *Southern blot* fue una técnica importante que determinó los principios básicos del ***Northern blotting*** (la separación y transferencia de moléculas de RNA, como se verá en la siguiente sección) y el **Western blotting** (la separación y transferencia de proteínas). (Las técnicas del *Northern* y el *Western blotting* no recibieron sus nombres por los científicos que las descubrieron, sino que son referencias irónicas a Ed Southern, el creador de los *Southern blots*.) La técnica de la transferencia Southern (o *Southern blotting*) tiene otras muchas aplicaciones incluyendo el mapeo de genes, la identificación de miembros de familias por sus genes, la detección de mutaciones genéticas, la confirmación de productos de PCR y la huella genética (tema que trataremos en el Capítulo 8). Se puede encontrar una excelente animación acerca de cómo se utiliza el análisis *Southern blot* en la huella genética en la página web del Centro de Aprendizaje *Cold Spring Harbor DNA Learning Center*, que aparece en la página web adjunta.

Estudiar la expresión génica

Muchos biólogos moleculares están inmersos en el estudio de la expresión génica y de su regulación. Dispone-

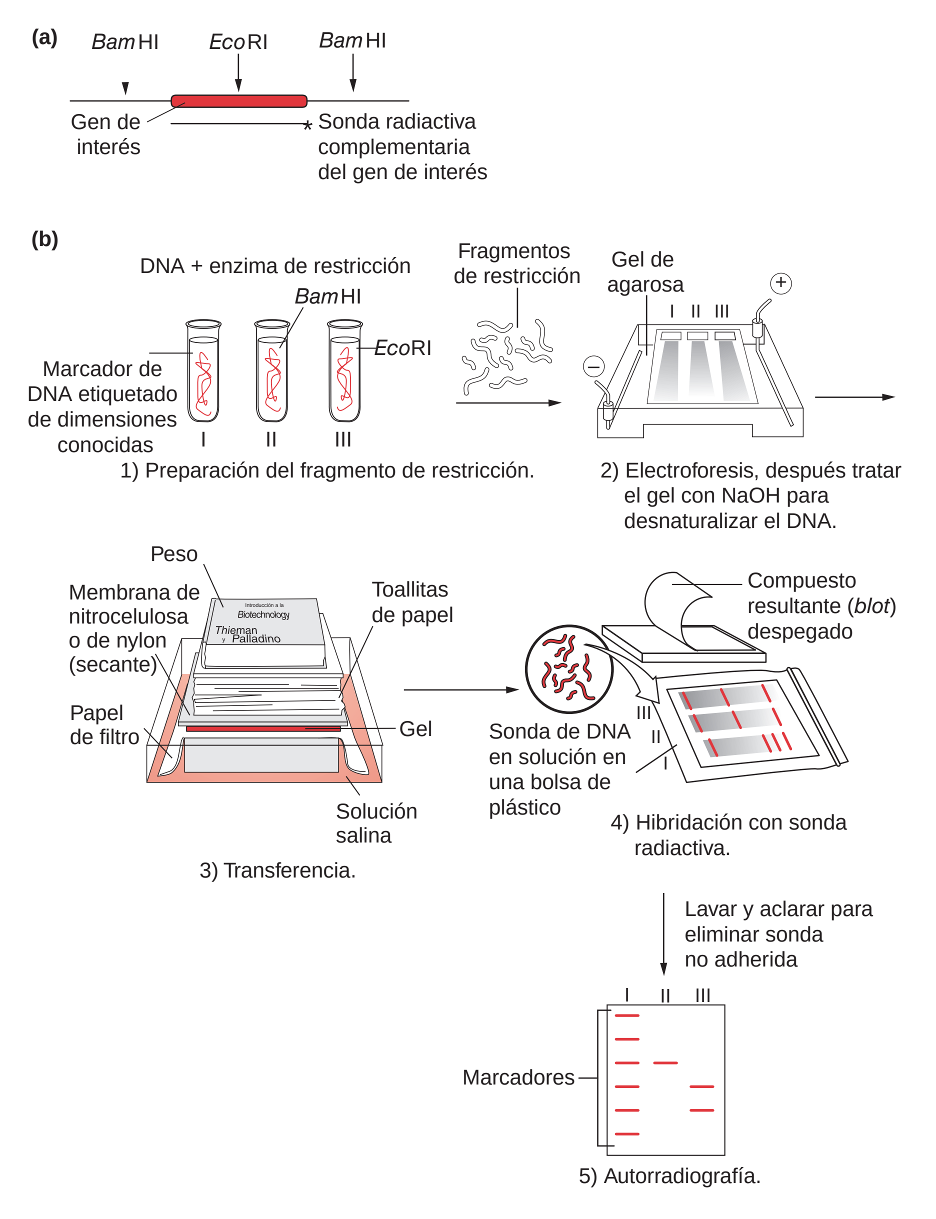


Figura 3.15 Análisis *Southern blot* de fragmentos de DNA (a) Región del DNA para estudiar un gen de interés por análisis de Southern blot. (b) Pasos de la transferencia Southern: 1) Las enzimas digieren las muestras de DNA a analizar. 2) Después, se separan las mezclas de los fragmentos de restricción de cada muestra por electroforesis. 3) Cuando se secan las muestras, la solución salina sube por capilaridad desde una mecha de papel filtrante a través del gel, arrastrando el DNA a una membrana de nylon al que se pegan las cadenas simples de DNA posicionadas en bandas exactamente como en el gel. 4) El compuesto resultante se expone a una solución que contiene una sonda marcada con radiactividad (un DNA de cadena simple complementario de la secuencia del DNA de interés) que se une por emparejamiento de bases a los fragmentos de restricción de la secuencia complementaria. 5) Se coloca una película sobre el compuesto resultante. La radiactividad de la sonda adherida expone la película, formando una imagen que corresponde a las bandas específicas de DNA de la membrana que empareja sus bases con la sonda.

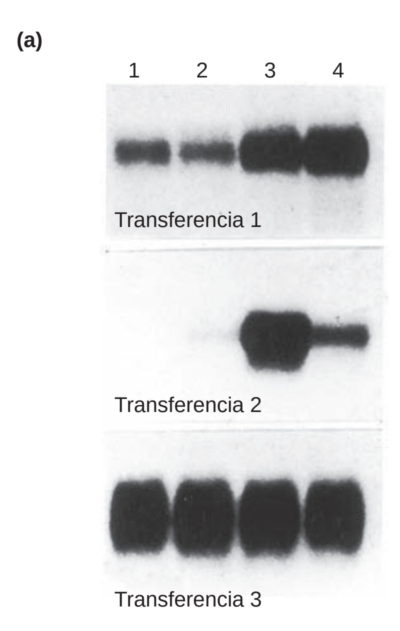
mos de gran variedad de técnicas moleculares para estudiar la expresión génica. La mayoría de los métodos conlleva el análisis del mRNA producido por un tejido. A menudo, ésta es una buena forma de medir la expresión génica porque la cantidad de mRNA producido por un tejido con frecuencia es equivalente a la cantidad de proteínas que fabrica el tejido.

Análisis *Northern blot*

Una técnica común para estudiar la expresión génica es el análisis *Northern blot.* Su metodología básica es similar al análisis *Southern blot.* En un *Northern blot,* se aísla el RNA de un tejido de interés y se separa mediante electroforesis en gel (las enzimas no digieren el RNA). El RNA se transfiere a una membrana de nylon y después se hibrida con una sonda como se describe en los *Southern blots.* Las bandas expuestas en la autorradiografía muestran la presencia de mRNA para el gen de interés y el tamaño del mRNA (Figura 3.16a). Además, se pueden comparar y cuantificar las cantidades de mRNA producido por los diversos tejidos.

PCR de transcripción inversa

A veces, la cantidad de RNA producido por un tejido está por debajo del nivel de detección del análisis *Northern blot.* La PCR permite detectar cantidades minúsculas de mRNA procedentes incluso de muy poco tejido de partida. Por ejemplo, la PCR ha sido de gran utilidad para los biólogos moleculares que estudian la expresión de los genes en embriones y en tejidos en desarrollo, en los que la cantidad de tejido que hay para analizar es muy pequeña. Como el RNA no se puede amplificar directamente por la PCR, se realiza una técnica denominada



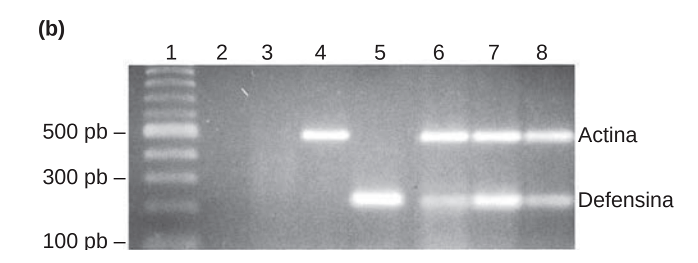


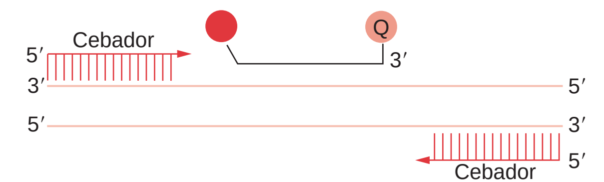
Figura 3.16 Análisis de la expresión génica mediante el análisis del *Northern blot* y la técnica RT-PCR El análisis del *Northern blot* y la RT-PCR son dos técnicas comunes para analizar la cantidad de mRNA producido por un tejido (expresión génica). (a) Transferencia 1 es un fragmento de una autorradiografía correspondiente a un experimento de *Northern blot* realizado con RNA de cuatro tejidos de rata: 1, vesículas seminales; 2, riñón; 3 y 4, diferentes segmentos del epidídimo (un órgano reproductor masculino). El RNA se transfirió a una membrana de nylon para después hibridarlo con una sonda de cDNA marcada con radiactividad para un gen implicado en la protección de tejidos contra daños por radicales libres, átomos o moléculas con número de electrones desparejado. Observa cómo la cantidad de mRNA detectado en los carriles 3 y 4 (indicado por el tamaño y la oscuridad de cada banda) es mayor que la cantidad de mRNA de los carriles 1 y 2. La transferencia 2 muestra una autorradiografía de la transferencia 1 a la que se le eliminó la sonda hibridada y se le volvió a hibridar una sonda para un gen diferente. La transferencia 3, la misma transferencia que se mostraba en los otros dos paneles, se lavó, se le eliminó la sonda de hibridación y después se volvió a hibridar con un cDNA radiactivo para un gen (ciclofilina) que se expresa a prácticamente el mismo nivel en casi todos los tejidos. (b) Gel de agarosa de un experimento RT-PCR en el que se realizó transcripción inversa en el RNA de tejidos de rata y se amplificó con cebadores de β-actina (un componente importante del citoplasma celular) y/o β-defensina-1 (un gen que codifica un péptido que aporta protección contra infecciones bacterianas en muchos tejidos). El carril 1 contiene estándares de tamaño del DNA de dimensiones conocidas (a menudo denominado escalera), que va aumentando por tramos de 100 pb. El carril 2 es una muestra negativa de control en la que se añadieron cebadores a un experimento PCR sin cDNA. El carril 3 es una muestra negativa de control en la que se añadió cDNA a un experimento PCR sin cebadores. Observa que los carriles no muestran ningún producto PCR amplificado porque no hay amplificación si el cDNA no es el DNA diana (carril 2) o sin cebadores (carril 3). El carril 4 muestra cDNA de riñón amplificado con cebadores de actina. El carril 5, cDNA de riñón amplificado con cebadores de defensina. Los carriles 6, 7 y 8 muestran productos PCR del cDNA de tres tejidos reproductores diferentes de rata que se amplificaron tanto con cebadores de actina como con cebadores de defensina. Observa cómo los carriles 6 y 8 muestran cantidades relativamente parecidas de productos PCR con actina y defensina; en el carril 7 se ven cantidades mayores de producto PCR con defensina. Estas diferencias reflejan las distintas cantidades de mRNA de defensina producido por estos tejidos.

PCR de transcripción inversa (RT-PCR). En la RT-PCR, la enzima transcriptasa inversa convierte el RNA aislado en cDNA de doble cadena en un proceso parecido a como se fabrica el cDNA para una biblioteca. Después, el cDNA se amplifica con un conjunto de cebadores específicos del gen de interés. Los fragmentos de DNA amplificado se someten a electroforesis en gel de agarosa y se evalúan para determinar los patrones de expresión en un tejido (ver Figura 3.16b).

PCR en tiempo real

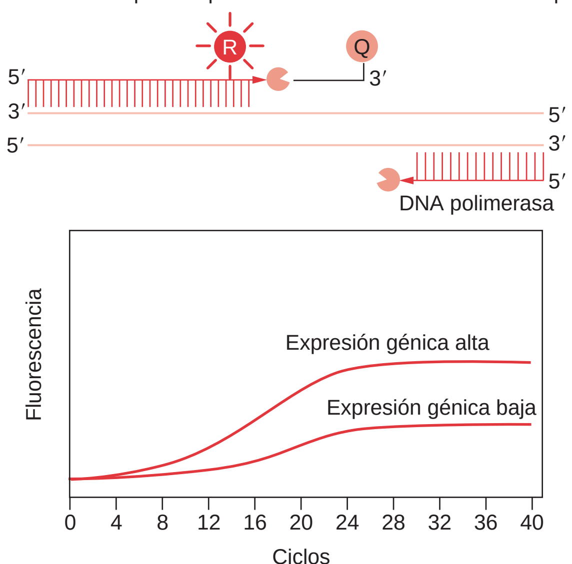
Las nuevas aplicaciones en la tecnología de la PCR hacen posible determinar la cantidad de producto que se produce durante un experimento mediante una técnica llamada **PCR en tiempo real o PCR cuantitativa (qPCR),** que permite a los investigadores cuantificar reacciones de amplificación a medida que ocurren en «tiempo real» (Figura 3.17). Hay varias maneras de realizar las reacciones PCR en tiempo real, pero el procedimiento básico implica el uso de termocicladores especializados (y caros) que utilizan un rayo láser que escanea la parte superior o inferior de cada tubo de PCR. Cada tubo de reacción contiene una sonda con colorante o un colorante que se une al DNA y emite luz fluorescente cuando es iluminado por el láser. La luz emitida por estos colorantes se correlaciona con la cantidad de producto amplificado de la PCR. Un detector captura la luz de cada tubo y suministra la información a un ordenador que proporciona una lectura sobre la cantidad de fluorescencia que hay después de cada ciclo y que se puede plotear y analizar para cuantificar la cantidad de productos de la PCR producidos después de cada ciclo.

Dos de los métodos que más se utilizan en la PCR en tiempo real implican el uso de un colorante llamado SYBR Green y sondas TaqMan. SYBR Green es un colorante que une DNA de doble cadena. A medida que se copia más DNA de doble cadena con cada ciclo de PCR en tiempo real, hay más copias de DNA que se unen con SYBR Green, lo que aumenta la cantidad de luz fluorescente emitida.



1. ***Hibridación.*** Los cebadores de PCR directo e inverso se unen al DNA diana desnaturalizado. La sonda TaqMan con el colorante reportero (R) e inhibidor de fluorescencia (Q) se une al DNA diana entre los cebadores. Cuando la sonda está intacta, la emisión del colorante reportero se apaga.

2. ***Extensión.*** A medida que la DNA polimerasa extiende el cebador directo, alcanza la sonda Taqmman y separa el colorante reportero de la sonda. Liberado del inhibidor de fluorescencia, ahora el reportero puede emitir luz cuando es excitado por un láser.



3. ***Detección.*** La luz emitida por el reportero es detectada e interpretada para producir una gráfica que cuantifica la cantidad de producto PCR resultante de cada ciclo.

Figura 3.17 PCR en tiempo real (a) El método TaqMan de PCR en tiempo real requiere un par de cebadores PCR junto con una secuencia de sonda complementaria al gen diana. La sonda contiene un colorante reportero (R) en un extremo y un colorante inhibidor de fluorescencia (Q) en el otro. Cuando el colorante apagador está cerca del colorante inhibidor, interfiere con la fluorescencia emitida por el colorante reportero. Cuando la *Taq* DNA polimerasa extiende un cebador para sintetizar una cadena de DNA separa el colorante reportero de la sonda, permitiendo al reportero ceder energía. (b) Cada ciclo de PCR subsiguiente elimina más colorantes reporteros, de modo que un ordenador puede capturar más luz emitida por el colorante para producir una lectura de intensidad de fluorescencia con cada ciclo.

Las sondas *Taqman* son complementarias de regiones específicas del DNA diana entre donde se unen los cebadores directo e inverso para la PCR (Figura 3.17). Las sondas *Taqman* contienen dos colorantes. Uno de ellos, el reportero, está localizado en el extremo 5′ de la sonda y puede emitir luz fluorescente cuando el rayo láser del termociclador lo excita. El otro colorante, llamado inhibidor de fluorescencia, se une al extremo 3′ de la sonda. Cuando estos dos colorantes están cerca uno del otro, el colorante inhibidor interfiere con la luz fluorescente emitida por el colorante reportero. Sin embargo, a medida que la *Taq* DNA polimerasa extiende cada cebador, elimina el colorante reportero del extremo de la sonda (y finalmente elimina la sonda entera). Ahora que el colorante reportero se ha separado del inhibidor, el termociclador puede detectar la luz fluorescente emitida por el primero. La luz detectada se analiza en un ordenador para producir una gráfica que muestra la cantidad de fluorescencia emitida en cada ciclo. Al no haber necesidad de correr geles en la PCR en tiempo real, es una técnica rápida y eficaz para medir y cuantificar cambios en la expresión génica, particularmente cuando se analizan muestras múltiples y genes diferentes.

Hibridación *in situ*

Cuando se expresa un gen en un órgano que tiene muchos tipos de células diferentes, por ejemplo tejido renal o tejido cerebral, el análisis *Northern blot* y el RT-PCR sólo pueden informarnos de que el órgano está expresando el mRNA de interés, pero no pueden determinar el tipo de célula (es decir, células epiteliales *versus* células de tejido conectivo) que está expresando el mRNA. Una técnica denominada **hibridación *in situ*** se suele utilizar para determinar el tipo de célula que está expresando un mRNA particular. En esta técnica, el tejido de interés se conserva en una solución fijadora y después se introduce en un material parecido a la cera o en resina, lo cual permite a los investigadores cortar el tejido en secciones muy finas de 1 a 5 µm de espesor y unirlas a un portaobjetos de microscopio. A veces se utilizan secciones congeladas de tejido para estos experimentos. Se incuba el portaobjetos con un colorante fluorescente o con una sonda RNA o DNA marcada con radiactividad para el gen de interés. Muchos investigadores también utilizan técnicas no isotópicas para marcar sondas para la hibridación *in situ*. La sonda se hibrida con el mRNA dentro de las células en su sitio nativo. Se cubren los portaobjetos con una emulsión fotográfica para revelar granos de plata como en la autorradiografía, o en el caso de sondas fluorescentes no radiactivas, se utilizan métodos de detección alternativos. Para algunos estudios, incluso se puede realizar PCR directamente sobre secciones de tejido *in situ* como forma de determinar la expresión de cada tipo de célula para un gen determinado.

Microarray de genes

El análisis ***microarray* de DNA,** también llamado **chip de DNA o micromatrices,** es otra técnica para estudiar la expresión génica que ha ganado popularidad rápidamente en los últimos años porque permite a los investigadores probar todos los genes expresados en un tejido muy rápidamente (ver Figura 3.18). Un *microarray*, también conocido como chip genético, se crea utilizando un pequeño portaobjetos de cristal. Las moléculas de cadena simple se unen o se localizan en el portaobjetos utilizando un brazo robótico de alta velocidad controlado por

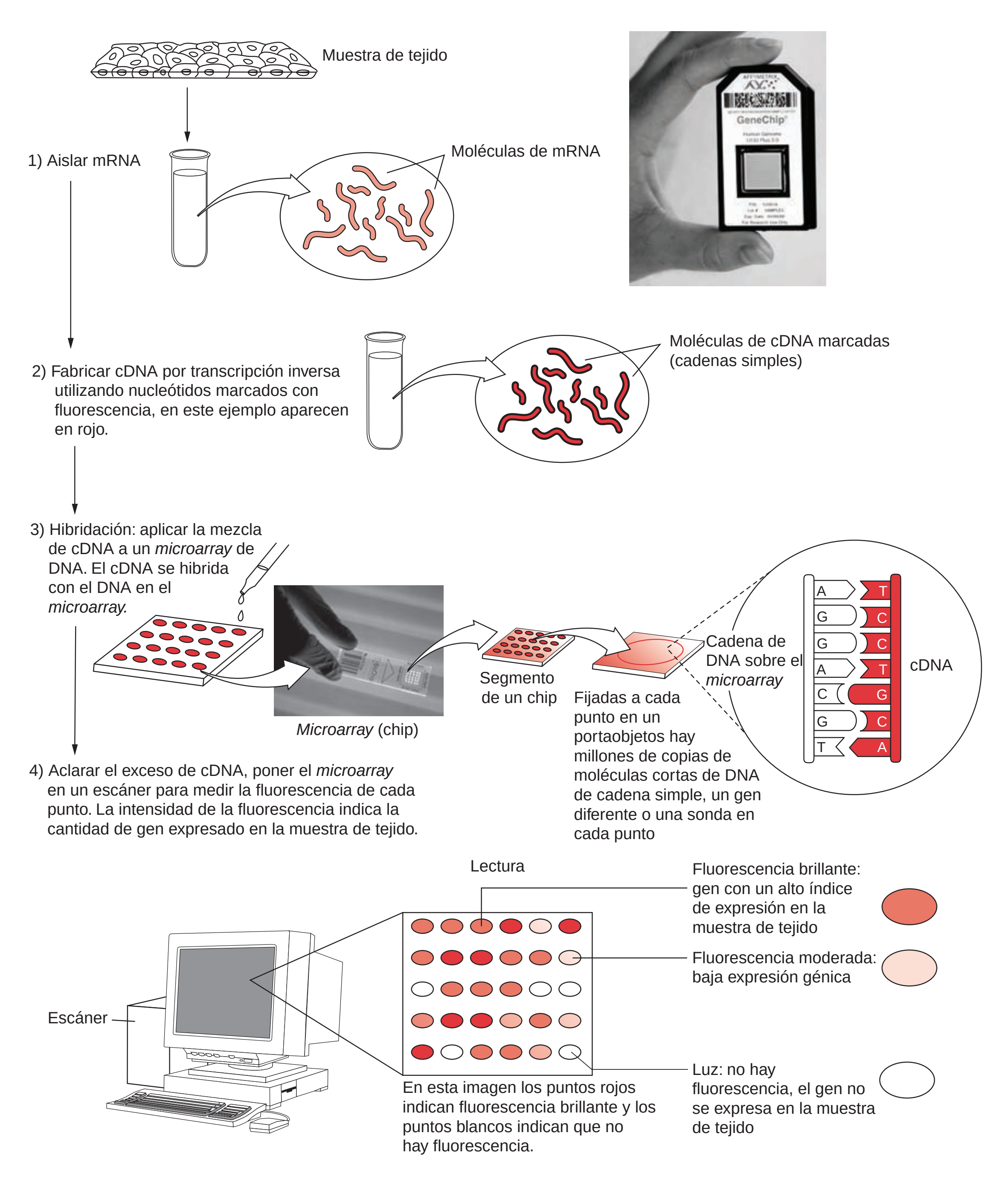


Figura 3.18 **Análisis de matrices de genes**

ordenador llamado *arrayer,* equipado con varias agujas diminutas, cada una de las cuales se sumerge en una pequeña cantidad de solución que contiene millones de copias de diversas moléculas de DNA (como los cDNA para los diferentes genes). El *arrayer* fija este DNA en el portaobjetos en lugares específicos (puntos) registrados por un ordenador. Un solo *microarray* puede tener más de 10.000 puntos de DNA, cada uno con secuencias únicas de DNA para un gen diferente.

Para utilizar un *microarray* para estudiar la expresión génica, los científicos extraen mRNA de un tejido de interés. El mRNA, o a veces el cDNA, se marca con un colorante fluorescente y se incuba toda la noche con el *microarray*. Durante esta incubación, el mRNA se hibrida en puntos del *microarray* que contienen secuencias complementarias de DNA. El *microarray* se lava y, posteriormente, se escanea con un láser que hace que el mRNA hibridado con el *microarray* emita fluorescencia. Estos

puntos fluorescentes revelan qué genes se expresan en el tejido de interés, y la intensidad de la fluorescencia indica la cantidad relativa de expresión. Cuanto más brillante sea el punto, más mRNA se expresa en ese tejido. También pueden realizarse *microarray*s marcando cDNA de dos o más tejidos con colorantes fluorescentes de distinto color. Los patrones de expresión génica de los diversos tejidos se comparan en base al color de los puntos o manchas que aparecen después de la hibridación y la detección.

Hay genomas enteros de muchas especies, incluyendo la humana, que están disponibles en los *microarray*s. Los investigadores también están utilizando *microarray*s para comparar patrones de genes expresados en tejidos bajo condiciones diferentes. Por ejemplo, las células cancerígenas se pueden comparar con las células normales para buscar genes que puedan estar implicados en la formación del cáncer.

Expresión de las proteínas y purificación

Las bacterias que han sido transformadas con plásmidos recombinantes que contienen un gen de interés a menudo se pueden utilizar para producir el producto proteínico del gen aislado. Se pueden cultivar grandes cantidades de bacterias en un fermentador y se puede aislar la proteína utilizando las técnicas descritas en el Capítulo 4. Concluimos nuestro estudio sobre la tecnología del DNA recombinante y sus aplicaciones en la sección siguiente echando un vistazo a la bioinformática, uno de los campos más novedosos y de más rápido desarrollo de la biología.

Estudios sobre mutagénesis

Dentro de las múltiples maneras con las que trabajan y estudian los científicos los genes clonados, hay una gran variedad de técnicas que se pueden utilizar para estudiar la estructura y funcionamiento de la proteína producida por un gen específico. Un método recibe el nombre de **mutagénesis dirigida.** En esta técnica, se pueden crear mutaciones en nucleótidos específicos de un gen clonado que esté contenido en un vector. Después, el gen se puede expresar en células, lo que da como resultado la traducción de una proteína mutada. Esto permite a los investigadores estudiar los efectos de mutaciones concretas en la estructura y las funciones de las proteínas como forma de determinar qué nucleótidos son importantes para las funciones específicas de la proteína. La mutagénesis dirigida puede ser una manera muy valiosa de ayudar a los científicos a identificar secuencias críticas en genes que producen proteínas implicadas en enfermedades humanas.

RNA de interferencia

En 1998, los investigadores Craig C. Mello, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Massachusetts, y Andrew Z. Fire de la Universidad de Stanford, publicaron trabajos pioneros en los que utilizaban fragmentos de doble cadena de RNA (dsRNA) para inhibir o silenciar la expresión génica en el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans.* Este mecanismo natural para inhibir la expresión génica es conocido como **RNA de interferencia (RNAi).** Como descubrieron Mello, Fire y otros investigadores, los dsRNA se pueden unir mediante una enzima que digiere RNA llamada **dicer** que corta el dsRNA en fragmentos de 21 a 25 nucleótidos de longitud de moléculas de RNA llamadas **RNA pequeñas de interferencia (siRNA).**

Estos siRNA están unidos por un complejo proteína-RNA llamado **complejo RISC** (*RNA-induced silencing complex*). RISC desenrolla la doble cadena de los siRNA, liberando siRNA de cadena simple que se unen a las secuencias complementarias en moléculas de mRNA. La unión de siRNA a mRNA da como resultado la degradación del mRNA (por la enzima cortadora slicer) o bloquea la traducción interfiriendo con la unión del ribosoma (Figura 3.19). El mecanismo de RNAi es similar a las acciones de silenciamiento de genes de los miRNA de las que hablamos en el Capítulo 2, pero una diferencia fundamental es que los siRNA se generan a partir de dsRNA.

Las técnicas que incorporan RNAi se han desarrollado rápidamente como métodos de regulación de la expresión

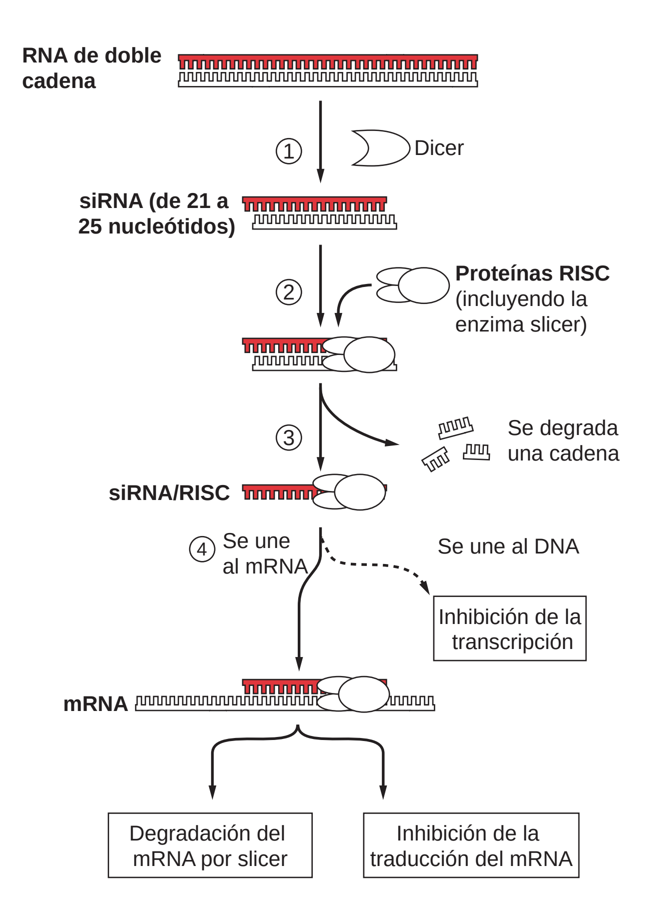


Figura 3.19 RNA de interferencia (1) La enzima dicer divide al RNA de doble cadena en siRNA. (2) Las proteínas RISC unen siRNA y degradan una de las dos cadenas (3) para producir siRNA de cadena simple. (4) Los siRNA de cadena simple se unen a secuencias complementarias en moléculas de mRNA en el citoplasma e interfieren con (silencian) la expresión del gen desencadenando la degradación del mRNA mediante slicer o inhibiendo la traducción del mRNA por los ribosomas.

génica y como forma potencial de desactivar genes específicos con gran eficacia. En el Capítulo 11, consideramos ejemplos de cómo las empresas de biotecnología y farmacia están trabajando en técnicas RNAi para silenciar genes implicados en las enfermedades humanas. La tecnología del RNAi se ha desarrollado tan rápidamente, que las estimaciones recientes indican que la utilización de agentes RNAi crecerá de aproximadamente 400 millones de dólares en 2005 a unos 850 millones en 2010. El Premio Nobel de Fisiología y Medicina de 2006 se concedió a Andrew Fire y a Craig Mello por su descubrimiento de este método natural de desactivación de genes. Suele ocurrir que los Premios Nobel se concedan décadas después de que el trabajo galardonado se haya terminado, de modo que este reconocimiento tan inusualmente rápido es una clara indicación del valor del RNAi como una herramienta muy poderosa y prometedora de investigación.

3.5 Genómica y bioinformática: nuevas áreas de biotecnología de plena actualidad

La clonación de genes individuales utilizando bibliotecas y otras técnicas descritas en este capítulo continuarán siendo métodos importantes de la tecnología del DNA recombinante. Sin embargo, más o menos en los últimos 15 años, varios avances en tecnologías de clonación y secuenciación han motivado cada vez más el uso de estrategias para la clonación, secuenciación y análisis de genomas enteros, una ciencia excitante y en rápido desarrollo llamada **genómica.** Aprenderás acerca de muchas aplicaciones de la genómica a medida que vayas estudiando biotecnología. Aquí te ofreceremos una introducción sobre cómo los científicos pueden estudiar genomas enteros.

Estrategias de secuenciación *shotgun* (o a perdigonazos) del genoma completo

Por muy poderosas que sean las técnicas tradicionales del DNA recombinante, cada vez está más claro que si los científicos quieren estudiar procesos biológicos complejos que impliquen muchos genes, como en la mayoría de los cánceres, clonar uno o incluso algunos genes de una vez es un proceso lento que sólo proporciona más información sobre genes. Como resultado, varios científicos empezaron a trabajar en estrategias para clonar y secuenciar genes enteros, una estrategia que suele denominarse **secuenciación o clonación *shotgun* (aleatoria).** La analogía es que clonar genes individuales utilizando bibliotecas es equivalente a utilizar un rifle para dar en un punto concreto de una diana (p. ej., clonar un gen específico), mientras que una escopeta de perdigones daría en varios puntos de la diana aleatoriamente con poca precisión. En la secuenciación *shotgun* el genoma completo, intrones y exones, se clona y secuencia; los genes individuales se clasifican posteriormente mediante bioinformática.

Una estrategia *shotgun* para construir la secuencia de cromosomas enteros implica la utilización de enzimas de restricción para digerir fragmentos de cromosomas enteros (Figura 3.20). Este proceso puede producir miles de fragmentos que tienen que ser secuenciados. Cada fragmento de cromosoma se secuencia separadamente y después se utilizan programas de ordenador para alinear los fragmentos en base a secuencias superpuestas. Este método permite a los científicos reconstruir la secuencia entera de todo un cromosoma, pero como puedes ver en la figura, el uso de ordenadores para organizar y comparar las secuencias del DNA de estos fragmentos es esencial. Esto es la **bioinformática** en acción, un campo interdisciplinar que aplica la ciencia informática y la tecnología de la información para promover una comprensión de los procesos biológicos.

En 1995, los científicos utilizaron una estrategia *shotgun* en el Instituto de Investigación Genómica (*Institute for Genomic Research*) para secuenciar los 1,8 millones de pares de bases del genoma de una cepa de bacterias llamada *Haemophilus influenzae.* Fue la primera vez que se había secuenciado el genoma completo de un organismo utilizando este método. Muchos dudaron de que las estrategias de secuenciación *shotgun* se pudieran utilizar eficazmente para secuenciar genomas más grandes, pero el desarrollo de esta técnica y las nuevas estrategias de secuenciación rápidamente aceleraron el progreso del Proyecto del Genoma Humano.

Bioinformática: fusión de la biología molecular con la tecnología informática

Cuando los científicos clonan y secuencian un gen o una secuencia de DNA identificada por primera vez, informan de sus hallazgos en publicaciones científicas y envían los datos de la secuencia a bases de datos para que otros científicos que puedan estar interesados en la información de esta secuencia puedan tener acceso a ella. La manipulación de las bases de datos de las secuencias de DNA fue una de las primeras aplicaciones de la bioinformática, que implica el uso de *hardware* y *software* de ordenador para estudiar, organizar, compartir y analizar datos relativos a la estructura, secuencia y expresión de los genes y la estructura y funcionamiento de las proteínas.

Como los datos sobre el genoma se han ido acumulando rápidamente, resultando en una cantidad enorme de información que se almacena en bases de datos públicas y privadas, la bioinformática se ha convertido en una herramienta esencial que permite a los científicos compartir y comparar datos, especialmente relativos a la secuencia de DNA. Como vimos en el Capítulo 1, la bioinformática es una de las áreas de la biotecnología que más se está desarrollando a nivel profesional. Tratamos las aplicaciones básicas de la bioinformática a lo largo de todo este libro; sin embargo, aquí hacemos una introducción a este campo con unas pocas aplicaciones muy comunes.

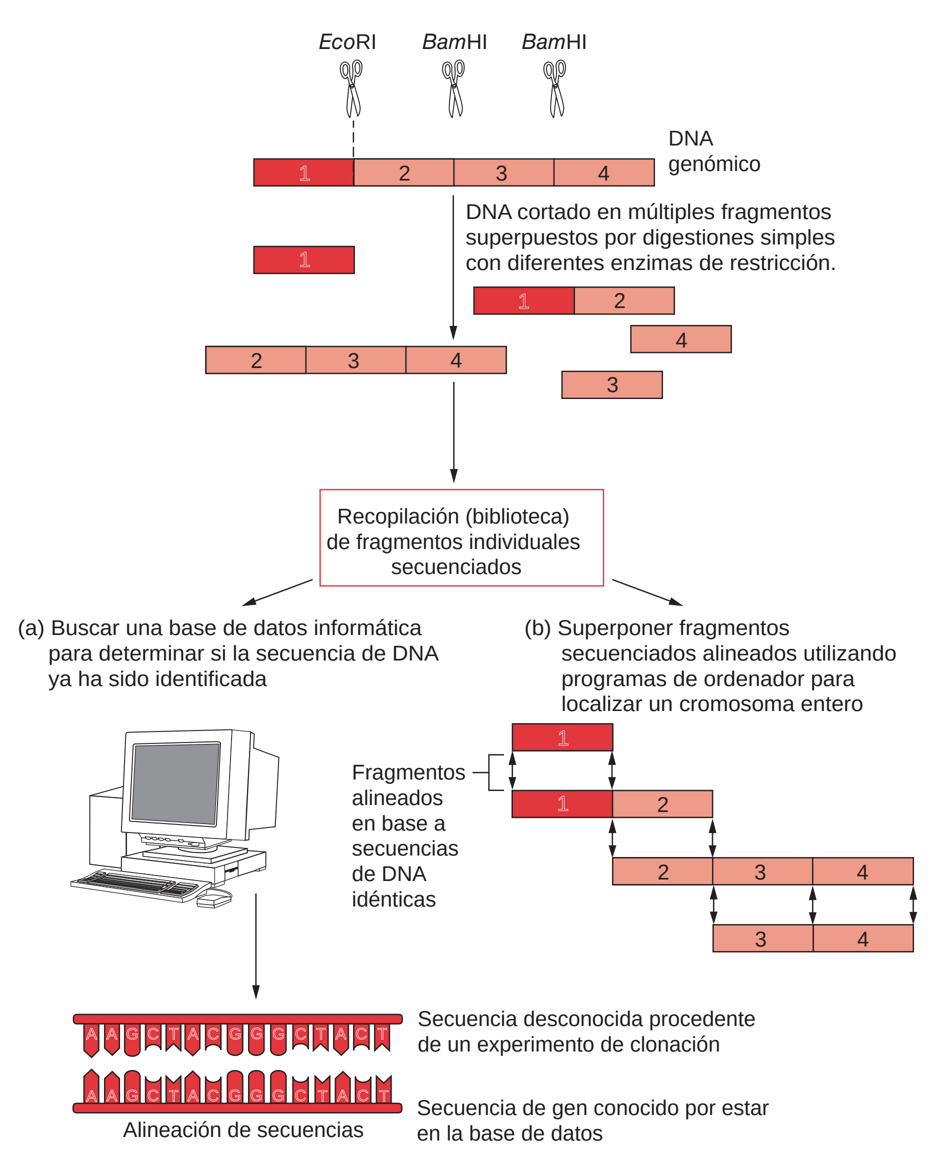


Figura 3.20 Secuenciación *shotgun* del genoma completo y dos ejemplos de aplicaciones bioinformáticas Se muestra un ejemplo simplificado de un fragmento de DNA genómico cortado en trozos más pequeños (marcados como 1, 2, 3 y 4) por *Eco*RI y *Bam*HI. Independientemente de como se clone un fragmento de DNA, el análisis de su secuencia es una parte esencial del aprendizaje sobre el DNA clonado. (a) Tal análisis suele comenzar buscando la secuencia desconocida comparándola con una base de datos de secuencias conocidas. En este ejemplo, la alineación de secuencias revela que la secuencia desconocida clonada coincide exactamente con una secuencia de un gen «conocido» que ya está en la base de datos. Nota: para mayor sencillez, sólo se compara con la base de datos una de las cadenas del DNA secuenciado. (b) Otra aplicación de la bioinformática implica la utilización de programas informáticos para alinear fragmentos de DNA basados en superposiciones de secuencias de nucleótidos. El esquema que mostramos aquí es parecido a un método empleado en el Proyecto del Genoma Humano para localizar secuencias completas de cromosomas enteros.

Ejemplos de bioinformática en acción

Incluso antes de los proyectos de secuenciación del genoma completo, los científicos habían estado acumulando una cantidad tremenda de información sobre secuencias de gran variedad de organismos diferentes, teniendo que desarrollar bases de datos sofisticadas que podían ser utilizadas por los investigadores de todo el mundo para almacenar, compartir y obtener la mayor cantidad de información posible acerca de proteínas y de secuencias de DNA. Las bases de datos son herramientas fundamentales para archivar y compartir datos con otros investigadores y con el público. Como las técnicas de secuenciación del DNA a gran velocidad automatizadas por ordenador se desarrollaron casi simultáneamente con la expansión de Internet como herramienta de información, muchas bases de datos de secuencias de DNA se compartieron a través de Internet.

Cuando los científicos que han clonado un gen introducen sus datos de secuencia en una base de datos, ésta busca la nueva secuencia para compararla con el resto de secuencias de la base de datos y crea una alineación de secuencias similares de nucleótidos si encuentra una correspondencia (Figura 3.20a). Este tipo de búsqueda a menudo es uno de los primeros pasos tras clonar un gen porque es importante determinar si la secuencia ya ha sido clonada y estudiada o si la secuencia del gen es nueva. Entre otras aplicaciones, estas bases de datos también pueden utilizarse para predecir la secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de nucleótidos y para suministrar información sobre el funcionamiento del gen clonado. Además, como veremos con más detalle en el Capítulo 11, una estrategia para construir la secuencia de cromosomas enteros implica un método *shotgun* en el que se secuencien por separado fragmentos de cromosomas enteros digeridos por una enzima de res-

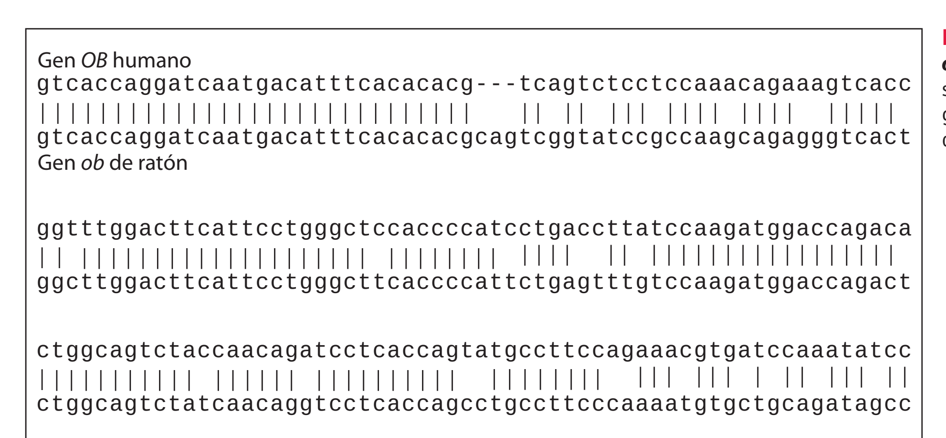


Figura 3.21 Comparativa de los genes *ob* humano y de ratón Se muestran las secuencias parciales de estos dos genes con el gen humano en la parte superior y la secuencia del gen de ratón debajo.

tricción y después se utilicen programas de ordenador para alinear los fragmentos en base a trozos de secuencias superpuestas llamados ***contigs*** (secuencias contiguas) (Figura 3.20b). Este método permite a los científicos reconstruir la secuencia entera de un cromosoma entero.

Se mantienen muchas bases de datos en todo el mundo. Una de las más utilizadas es **GenBank.** Es la mayor base de datos de secuencias de DNA a disposición pública y contiene la colección de secuencias de DNA de los Institutos Nacionales de Salud (NIH). GenBank comparte y adquiere datos de bases de datos de Japón y Europa. El *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* de Washington D.C. es el encargado de mantenerla. GenBank contiene más de 65 mil millones de bases de datos de secuencia de más de 100.000 especies y duplica su tamaño más o menos cada 14 meses. El NCBI es una mina de oro de recursos bioinformáticos que crea bases de datos de acceso público y desarrolla herramientas informáticas para analizar y compartir datos del genoma. El NCBI también ha diseñado formas sencillas para acceder y analizar una cantidad increíble de datos sobre secuencias de nucleótidos, secuencias de proteínas, estructuras moleculares, datos de genomas e incluso literatura científica.

Búsqueda de bases de datos de DNA: inténtalo tú mismo

Por ejemplo, se puede utilizar un programa del NCBI llamado **Basic Local Alignment Search Tool (Herramienta de Búsqueda de Alineación Local Básica, BLAST),** en www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) para buscar en GenBank las correspondencias entre secuencias de genes clonados. Ve a la página web de BLAST y haz clic en «standard nucleotide-nucleotide BLAST [blastn]». En el recuadro de búsqueda escribe la siguiente secuencia: AATAAAGAACCAGGAGTGGA. Imagina que esta secuencia es de un fragmento de un gen que acabas de clonar y secuenciar y quieres saber si alguien ha clonado este gen antes que tú. Haz clic en el botón «Blast!». Tendrás tus resultados en uno o dos minutos. Haz clic en el botón «Format!» para ver los resultados de tu búsqueda. Aparecerá una página mostrándolos (puede que tengas que hacer avanzar la página para encontrar la alineación de la secuencia). ¿Qué has encontrado?

La Figura 3.21 muestra una alineación de búsqueda BLAST comparando las secuencias de genes humanos y de ratón para un gen de la obesidad (*ob*) que produce una hormona llamada *leptina.* La leptina desempeña una función en el metabolismo de las grasas, pudiendo las mutaciones en el gen de leptina contribuir a la obesidad (ver también Figura 11.1). Observa cómo la secuencia de nucleótidos para estos dos genes es muy parecida, lo cual se ve por las líneas verticales entre nucleótidos idénticos.

El Comité de Nomenclatura del Genoma Humano (Human Genome Nomenclature Committee), que depende de los NIH, establece reglas para asignar nombres y símbolos a genes humanos de nueva clonación. Cada entrada en el GenBank se proporciona con un **número de acceso** que pueden utilizar los científicos para referirse a esa secuencia clonada. Por ejemplo, ve a la página web del GenBank* que aparece en la lista de la página web adjunta, introduce el número de acceso U14680 y haz clic en «GO». ¿Qué gen se identifica con este número de acceso? Haz clic en el vínculo del número de acceso. Observa que GenBank proporciona la referencia original que informó de esta secuencia, el código de una letra de aminoácidos de la proteína codificada por este gen y la secuencia de nucleótidos (cDNA) de este gen. También puedes escribir el nombre de un gen o un gen potencial de tu interés para ver si ya se ha clonado y enviado a GenBank.

GenBank es sólo un ejemplo de una base de datos muy valiosa que, además, constituye una herramienta esencial para los bioinformáticos. Hay muchas otras bases de datos especializadas con informaciones tales como datos sobre polimorfismos de nucleótidos simples, bases de datos de las bibliotecas acerca de los BAC y los YAC y bases de datos de proteínas que catalogan secuencias de aminoácidos y estructuras tridimensionales de proteínas.

* La búsqueda BLAST identificará una correspondencia con un gen humano para el cáncer de mama en las primeras fases, el *BRCA*1. La búsqueda de GenBank identifica el mismo gen mediante su número de acceso.

Un esfuerzo de clonación de genomas de proporciones épicas: el Proyecto del Genoma Humano

Es un momento muy emocionante para estudiar biotecnología. Tenemos la suerte de ser testigos de un proyecto sin precedentes que implica muchas de las técnicas descritas en este capítulo, el **Proyecto del Genoma Humano (PGH).** Comenzado en 1990 por el Departamento de Energía de Estados Unidos (DOE), el PGH era un esfuerzo de colaboración internacional con un plan a 15 años para identificar todos los genes humanos, que originalmente se estimaban entre 80.000 y 100.000 genes, y para secuenciar los aproximadamente 3 mil millones de pares de bases que se pensaba comprendían los 24 diferentes cromosomas humanos (cromosomas 1 al 22, X, Y). El Proyecto del Genoma Humano también se diseñó para conseguir lo siguiente:

- Analizar variaciones genéticas entre seres humanos. Esto incluía la identificación de polimorfismos de nucleótidos simples (SNP; ver Figura 1.11).
- Cartografiar y secuenciar los genomas de **organismos modelo,** incluyendo bacterias, levaduras, gusanos, moscas de la fruta y ratones.
- Desarrollar nuevas técnicas de laboratorio, tales como secuenciadores automatizados y tecnologías informáticas de alta resolución (incluyendo bases de datos de información sobre el genoma) que pueden ser utilizadas para avanzar en nuestro análisis y comprensión de la estructura y el funcionamiento de los genes.
- Difundir la información sobre el genoma entre los científicos y el público en general.
- Considerar los temas éticos, legales y sociales que acompañan al Proyecto del Genoma Humano y a la investigación genética.

En Estados Unidos, el *National Center of Human Genome Research,* una división de los NIH y del DOE, coordinó la investigación pública sobre el PGH. El proyecto creó siete centros importantes de secuenciación en Estados Unidos. Con el tiempo, el proyecto creció hasta convertirse en un esfuerzo internacional con contribuciones de científicos de 18 países, pero el trabajo fue principalmente realizado por el Consorcio Internacional de Secuenciación del Genoma Humano, que implicó a casi 3.000 científicos que trabajaron en 20 centros de seis países: China, Francia, Alemania, Gran Bretaña, Japón y Estados Unidos. El presupuesto estimado para completar el genoma fue de 3 mil millones de dólares, a un coste de 1 dólar por nucleótido. Motivado en parte por la competencia entre empresas privadas y el desarrollo de secuencias de DNA automatizadas por ordenador tales como la descrita en la Figura 3.14 y la bioinformática, el Proyecto del Genoma Humano resultó ser un inusual proyecto gubernamental que satisfizo todos los objetivos iniciales y algunos adicionales más de dos años antes de la fecha prevista y manteniéndose dentro del presupuesto.

Uno de los competidores más agresivos del proyecto fue una empresa privada llamada Celera Genomics (cuyo nombre deriva de «celeridad», que significa «rapidez») dirigida por el Dr. J. Craig Venter, citado anteriormente en esta sección por ser el científico que dirigía el Instituto de Investigación Genómica (TIGR) cuando utilizó la clonación *shotgun* para secuenciar el genoma de *H. influenza.*

Celera anunció su intención de usar tecnologías punteras para la clonación *shotgun,* tales como las utilizadas para secuenciar el genoma de *H. influenza* y secuenciadores de DNA automatizados por ordenador y de nueva creación para secuenciar el genoma humano completo en tres años. Temerosos acerca de cómo las empresas privadas podían controlar el suministro de información sobre el genoma, los grupos del gobierno de Estados Unidos implicados en el Proyecto del Genoma Humano se vieron forzados a mantener el mismo ritmo que los grupos privados para seguir siendo competitivos en la carrera por completar el genoma.

En 1998, como resultado del acelerado progreso, se puso la fecha de 2003 como término del proyecto. El 26 de junio de 2000 los líderes del Proyecto del Genoma Humano y de Celera Genomics participaron en una rueda de prensa con el Presidente Clinton para anunciar públicamente la terminación del primer borrador del genoma humano secuenciado que localizaba aproximadamente el 95 por ciento de los genes humanos dentro de los cromosomas (casi cuatro años antes de la fecha prevista inicialmente). En una conferencia de prensa conjunta el 12 de febrero de 2001, el Dr. Francis Collins, director del Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano y director del Proyecto del Genoma Humano y el Dr. J. Craig Venter, de Celera, anunciaron que las prestigiosas revistas científicas *Nature* y *Science* respectivamente iban a publicar varios artículos que describían el análisis inicial del borrador de la secuencia del genoma humano. Los científicos pasaron los dos años siguientes trabajando para llenar los miles de huecos del genoma completando la secuenciación de fragmentos no terminados, corrigiendo alineamientos mal realizados y comparando secuencias para garantizar la precisión del genoma. El 14 de abril de 2003, el Consorcio Internacional de Secuenciación del Genoma Humano anunció que su trabajo había terminado. Se había completado esencialmente un «mapa» del genoma humano, habiéndose identificado casi todas las bases y habiéndose colocado en su orden correcto.

¿Qué hemos aprendido del genoma humano?

Uno de los hallazgos más sorprendentes del proyecto fue que el genoma humano consiste sólo en 20.000 a 25.000 genes codificadores de proteínas, no los 100.000 genes que se había predicho. Esta predicción se basaba principalmente en la estimación de que las células humanas fabrican aproximadamente de 100.000 a 150.000 proteínas. Un motivo por el que el número real de genes es muy inferior al predicho es el descubrimiento de muchas familias de genes con funciones relacionadas entre sí. Se ha estimado que

más de la mitad de los genes humanos pueden producir proteínas múltiples mediante *ayuste* o *splicing* alternativo.

El análisis de genes humanos por categorías funcionales ha proporcionado a los científicos genetistas una instantánea del número de genes implicados en diversas funciones moleculares. La Figura 3.22 muestra una interpretación propuesta sobre las funciones asignadas a los genes humanos en base a la similitud de secuencias de genes con genes de función conocida. No es sorprendente que muchos genes codifican enzimas mientras que otras grandes categorías de genes codifican proteínas implicadas en la señalización y la comunicación dentro de y entre las células y las proteínas que se unen al DNA y al RNA. Observa que esta estimación también muestra que aproximadamente el 42 por ciento de los genes humanos no tienen una función conocida, aunque las evidencias recientes sugieren que las funciones de más de la mitad de nuestros genes siguen siendo desconocidas. Recuerda esto si te interesa ejercer como genetista, porque la comprensión de lo que hacen estos genes proporcionará emocionantes oportunidades profesionales durante muchos años en el futuro.

Te ofrecemos a continuación un resumen de los conceptos básicos más importantes que han aprendido los científicos del Proyecto del Genoma Humano:

- El genoma humano consiste en unos 3,1 mil millones de pares de bases; 2,85 mil millones de pares de bases ya se han secuenciado por completo.
- El genoma es aproximadamente el mismo en un 99,9 por ciento en personas de todas las nacionalidades y orígenes.
- Menos del 2 por ciento del genoma codifica para los genes.
- La gran mayoría de nuestro DNA no codifica proteínas y las secuencias de DNA repetidas componen al menos el 50 por ciento del DNA no codificante.
- El genoma contiene aproximadamente de 20.000 a 25.000 genes codificadores de proteínas.
- Muchos genes humanos son capaces de fabricar más de una proteína, permitiendo que las células humanas fabriquen tal vez de 80.000 a 100.000 proteínas a partir de sólo 20.000 a 25.000 genes.
- Las funciones de más de la mitad de todos los genes humanos son desconocidas.
- El cromosoma 1 es el que contiene el mayor número de genes. El cromosoma Y es el que contiene menos genes.
- Gran parte del genoma humano muestra un alto grado de similitud en las secuencias con genes de otros organismos.
- Se han identificado y mapeado miles de genes de enfermedades humanas en sus localizaciones cromosómicas.

¿Cómo nos podemos beneficiar del PGH? Se ha descrito la secuencia completa del genoma humano como el «patrimonio» de la humanidad, ya que contiene las claves científicas para comprender nuestra biología y comportamiento. La identificación de todos los genes humanos no es tan importante como la comprensión de *lo que* hacen esos genes y *cómo* funcionan. No comprenderemos del todo el funcionamiento de todos los genes humanos en muchos años, si es que llegamos a hacerlo. Un impacto inmediato del PGH será la identificación de genes asociados con enfermedades genéticas humanas. En el

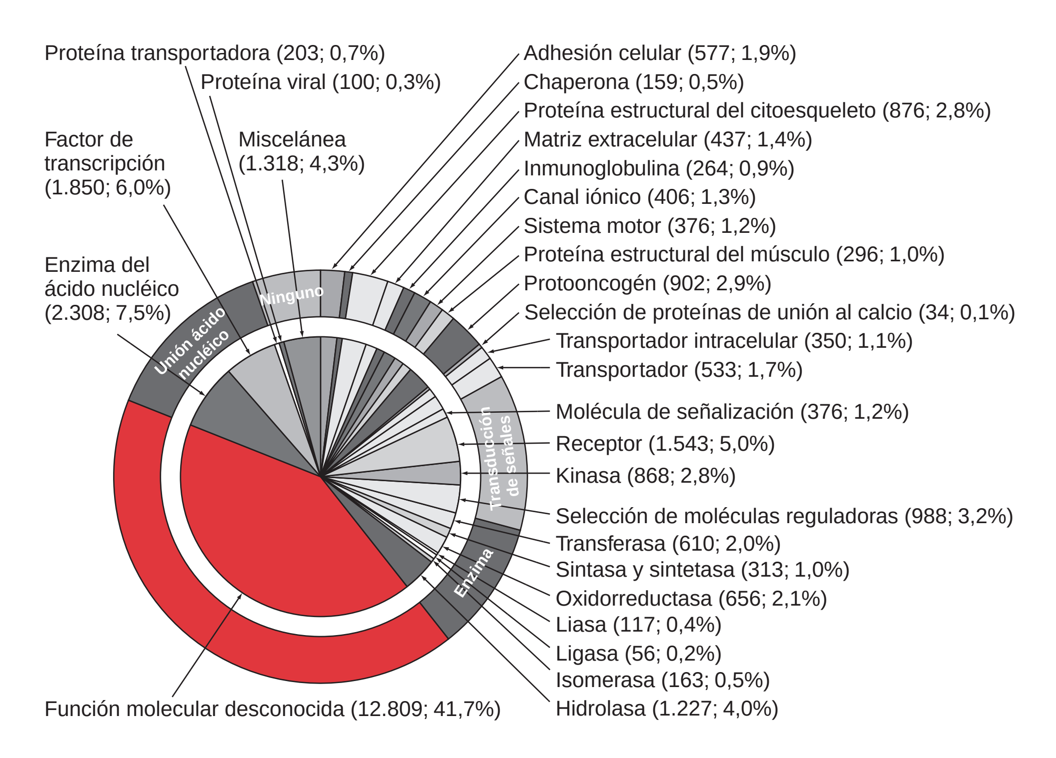


Figura 3.22 Funciones propuestas para los genes humanos asignadas a diversas categorías funcionales Los paréntesis muestran porcentajes basados en los datos publicados en 2001 por Venter et al. para 26.383 genes.

Capítulo 11 discutimos algunos de los hallazgos más importantes del genoma humano, particularmente los relacionados con genes de enfermedades humanas (ver Figuras 3.26 y 3.27). Una comprensión mejor de la base genética de muchas enfermedades favorecerá el desarrollo de nuevas estrategias para la detección de enfermedades y terapias y curas innovadoras. Para una información actualizada sobre el PGH y para una buena perspectiva general sobre los objetivos, las tecnologías de secuenciación y mapeo y los temas éticos, legales y sociales del PGH, visita el sitio de información sobre el Proyecto del Genoma Humano del DOE y otros sitios sobre genoma humano que aparecen en la lista de la página web adjunta.

El Proyecto del Genoma Humano desencadenó una revolución «ómica»

El Proyecto del Genoma Humano y la genómica son en gran parte el preludio de una nueva área de investigación biológica: las disciplinas acabadas en «-ómica». Parece que cada año se describen nuevas áreas de investigación biológica que tienen una conexión «ómica». Por ejemplo:

- Proteómica: es el estudio de todas las proteínas de una célula
- Metabolómica: es el estudio de las proteínas y las vías enzimáticas implicadas en el metabolismo celular
- Glucómica: es el estudio de los hidratos de carbono de una célula
- Interactómica: es el estudio de las interacciones complejas de las redes de proteínas dentro de una célula
- Transcriptómica: es el estudio de todos los genes expresados (transcripción) en una célula

Como mayor evidencia del impacto de la genómica, ha emergido un nuevo campo de ciencia nutricional llamada genómica nutricional o **nutrigenómica.** La nutrigenómica se ocupa de comprender las interacciones entre dieta y genes. Algunas empresas suministran tests de nutrigenómica en los que utilizan *microarray*s u otras pruebas genéticas para analizar tu genotipo buscando genes que se cree que están vinculados con enfermedades o aspectos del metabolismo de los nutrientes. Posteriormente, estas empresas proporcionan un informe personalizado sobre nutrición y afirman que pueden sugerir cambios que puedes hacer en la dieta para mejorar tu salud y evitar enfermedades basadas en tus genes. Los científicos discuten si la nutrigenómica es realmente un método científico válido.

Genómica comparada

Te puede sorprender que, además de estudiar el genoma humano, el PGH implicó el mapeo y la secuenciación de genomas de varios organismos modelo, como *E. coli,* una planta modelo llamada *Arabidopsis thaliana,* la levadura *Saccharomyces cerevisiae,* la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster,* el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans* y el ratón *Mus musculus,* entre otras especies. Las secuencias completas del genoma de estos organismos modelo han sido increíblemente útiles para los estudios de **genómica comparada,** que permiten a los investigadores estudiar la estructura y funcionamiento de los genes en estos organismos para comprender la estructura y funcionamiento en otras especies, incluyendo a la humana. Ya que compartimos muchos de nuestros genes con las moscas, los gusanos y los ratones, esos estudios también motivarán una mayor comprensión de la evolución humana. El número de genes que compartimos con otras especies es muy alto, variando entre un 30 por ciento de genes compartidos con la levadura a un 80 por ciento con los ratones y un 95 por ciento con los chimpancés (Tabla 3.3). Recientemente se completó el genoma del «mejor amigo del hombre», que reveló que compartimos alrededor del 75 por ciento de nuestros genes con los perros. El DNA humano incluso contiene unos 100 genes que también poseen muchas bacterias. En 2006, los investigadores del Baylor College of Medicine completaron el genoma de 814 millones de pb del erizo de mar (*Strongylocentrus purpuratus*), un invertebrado que ha servido de importante organismo modelo particularmente para los biólogos del desarrollo. De los 23.500 genes presentes en el genoma del erizo de mar, muchos incluyen genes con funciones importantes en los seres humanos.

Se han secuenciado completamente los genomas de muchos organismos modelo y por todo el mundo hay literalmente cientos de proyectos de genómica en marcha. Los NIH están trabajando en un proyecto sobre el genoma del cáncer denominado **Proyecto Atlas del Genoma del Cáncer** para mapear genes importantes y cambios genéticos implicados en el cáncer. Debido a los rápidos avances en las tecnologías de secuenciación, varias empresas incluso han propuesto secuenciar **genomas personalizados**. En 2006, la Fundación Premio X anunció el Premio Arconte X (Archon X Prize) de genómica, un proyecto que premia con 10 millones de dólares al primer equipo que pueda desarrollar la tecnología capaz de secuenciar 100 genomas humanos en 10 días o menos, con una gran exactitud y a un coste no mayor de 10.000 dólares por genoma. Otros grupos están trabajando en la secuenciación de un genoma personalizado por sólo 1.000 dólares.

En 2007, la empresa de Connecticut llamada 454 Life Sciences, junto con varios investigadores de la Universidad de Baylor, secuenció el genoma de James Watson por un millón de dólares. 454 Life Sciences está desarrollando un innovador secuenciador de DNA y decidió que el «Proyecto Jim», secuenciar el genoma del co-descubridor de la estructura del DNA, era una buena manera de desarrollar y promover su tecnología secuenciadora. James Watson suministró una muestra de sangre a 454 científicos en 2005 y a mediados de 2007 regalaron al Dr. Watson dos DVD que contenían la secuencia de su genoma. Watson ha dado permiso para que su secuencia se ponga a disposición de los investigadores excepto la de su gen de apo-

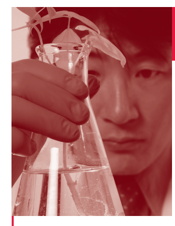
Tabla 3.3 COMPARACIÓN DE GENOMAS SELECCIONADOS

Organismo (nombre científico)	Tamaño aproximado del genoma (fecha completada)	Número de genes	Porcentaje aproximado de genes compartidos con humanos	Acceso web a las bases de datos del genoma
Bacteria (*Escherichia coli*)	4,1 millones de pb (1997)	4.403	No determinado	www.genome.wisc.edu/
Chimpancé (*Pan troglodytes*)	~3 mil millones de pb (borrador inicial, 2005)	~20.000-24.000	96%	http://www.nature.com/nature/focus/chimpgenome/index.html
Gusano (*Caenorhabditis elegans*)	97 millones de pb (1998)	19.099	40%	genomeold.wustl.edu/projects/celegans
Levadura (*Saccharomyces cerevisiae)*	12 millones de pb (1996)	~5.700	30%	genomeold.wustl.edu/projects/yeast.index.php
Mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*)	165 millones de pb (2000)	~13.600	50%	www.fruitfly.org
Perro (*Canis familiaris*)	6,2 mil millones de pb (2003)	~18.400	75%	http://www.ncbi.gov/genome/guide/dog
Planta (*Arabidopsis thaliana*)	119 millones de pb (2000)	~26.000	No determinado	www.arabidopsis.org
Pollo (*Gallus gallus*)	Mil millones de pb (2004)	~20.000-23.000	60%	http://genomeold.wustl.edu/projects/chicken
Rata (Rattus norvegicus)	~2,75 mil millones de pb (2004)	~22.000	80%	www.hgsc.bcm.tmc.edu/projects/rat
Ratón (*Mus musculus*)	~2,5 mil millones de pb (2002)	~30.000	~80%	www.informatics.jax.org
Ser humano (*Homo sapiens*)	~2,9 mil millones de pb (2004)	~20.000-25.000	100%	www.doegenomes.org

lipoproteína E (*ApoE*). Las mutaciones genéticas de *ApoE* pueden indicar una predisposición a padecer la enfermedad de Alzheimer. El genoma del pionero del genoma humano Craig Venter también fue secuenciado por los científicos del Craig J. Venter Institute.

Una división de los NIH también está trabajando en el Proyecto del Genoma Ambiental, diseñado para catalogar variaciones en los genes afectados por toxinas ambientales, genes que degradan toxinas y genes que ayudan a las células a reparar el DNA. A lo largo de este libro aprenderás muchas aplicaciones de la genómica. Tienes otro ejemplo en el Capítulo 5, donde hablaremos sobre los proyectos de secuenciación genómica microbiana que están secuenciando los genomas de cientos de microbios identificados recientemente.

Hace poco se secuenció el primer genoma de un árbol, el álamo negro de Virginia (un tipo de álamo o chopo). Hasta ahora, los 45.555 genes del álamo son el número más alto que se ha encontrado en un genoma. Los científicos anticipan utilizar los datos de este proyecto para ayudar a la industria forestal a hacer productos mejores, como los biocombustibles o incluso los álamos modificados con ingeniería genética para capturar altos niveles de dióxido de carbono de la atmósfera. También se ha completado hace poco el genoma de la abeja, y la información correspondiente de este proyecto se utilizará para entender la genética y el comportamiento de las abejas para ayudar a la industria productora de miel, así como para comprender mejor cómo las toxinas de las abejas producen respuestas alérgicas.



PERFIL PROFESIONAL

Opciones profesionales en la industria biofarmacéutica: perspectivas de un recién graduado

Las empresas biofarmacéuticas utilizan muchas disciplinas biológicas para descubrir nuevos tratamientos y para desarrollarlos desde las etapas de investigación y desarrollo, pasando por la fabricación comercial, el *marketing* y finalmente las ventas. ¿Qué es lo que hace a la industria biofarmacéutica diferente de la industria farmacéutica? En general, las empresas farmacéuticas desarrollan medicamentos con base química que tratan las enfermedades de una manera no específica, mientras que la industria biofarmacéutica utiliza el conocimiento de los sistemas biológicos para desarrollar fármacos con base biológica que tratan las enfermedades de un modo muy específico. Aunque la industria biofarmacéutica actualmente es mucho más pequeña que la farmacéutica, su crecimiento viene potenciado por la creciente concienciación sobre el potencial para tratar las enfermedades de una manera efectiva y la posibilidad de encontrar cura para enfermedades que hasta ahora se había pensado que eran incurables.

Las salidas profesionales de la industria biofarmacéutica son parecidas a las de la industria farmacéutica. Aunque las salidas profesionales sean muy amplias, no es fácil acceder a un puesto de trabajo en una empresa biofarmacéutica. La competencia es muy dura y la verdad es que por muy bien que encajes en un puesto, siempre hay alguien que estará igualmente cualificado. Por este motivo, tienes que empezar a pensar en las opciones profesionales a tu alcance en cuanto hayas elegido un campo importante. El mejor modo de comenzar es familiarizándose con la industria. Muchas de las páginas web citadas en este libro, son recursos excelentes para conocer diversas oportunidades de trabajo. Este conocimiento te permitirá adaptar tus estudios a una función profesional concreta.

Hay muchos puestos iniciales a disposición de los que aún están estudiando; sin embargo, haber acabado una carrera universitaria te garantizará un salario inicial algo mayor. De hecho, muchos de los puestos iniciales de mayor salario requieren estudios superiores, como un master o incluso un doctorado. Saber esto puede influir mucho en tu decisión de continuar tu formación antes de entrar en el mercado de trabajo. Sin embargo, pese a la importancia de los estudios, quienes contratan están constantemente buscando candidatos con experiencia. Ganarla mediante trabajo voluntario, trabajos de investigación o trabajo bajo supervisión proporciona la mejor oportunidad para ganar experiencia real mientras terminas los estudios. Los trabajos bajo supervisión no sólo son una manera excelente de aprender acerca de las diversas funciones en una empresa para ver cuál te gusta más, sino que también pueden motivar tu contratación después de que termines de estudiar.

El trabajo temporal también puede ser una buena forma de empezar en una empresa biofarmacéutica. Muchas empresas de trabajo temporal trabajan con demandantes de empleo y empresas biofarmacéuticas para encontrar personas que puedan ocupar un puesto durante un corto período de tiempo; no obstante, si trabajas bien en un puesto temporal, puede que la empresa intente buscarte un puesto permanente.

Cuando consideramos un puesto, es importante entender su descripción, así como lo que se requiere para ocuparlo. Muchas empresas contratan personas como técnicos de laboratorio, pero las descripciones de los puestos son tan numerosas como los puestos mismos. Como cada empresa es diferente, escoger una carrera profesional basándonos sólo en el nombre del puesto es difícil. Por ejemplo, dentro de una empresa, los técnicos de laboratorio pueden trabajar en áreas tan dispares como control de calidad, investigación y desarrollo y diagnósticos. Todas estas áreas tienen funciones diferentes, pero los técnicos de laboratorio utilizan las mismas herramientas y el mismo conocimiento para realizar su trabajo diario. Por ejemplo, los técnicos del laboratorio de control de calidad siguen procedimientos muy controlados y precisos para comprobar la calidad de un producto; su función principal es asegurarse de que se está produciendo un buen producto. Los técnicos que trabajan capacidad de diagnóstico tienen la responsabilidad de probar un producto o procedimiento nuevo, para asegurarse de que funciona correctamente, y de recomendar mejoras. Los técnicos de investigación y desarrollo o del laboratorio de descubrimientos tienen la responsabilidad de lo que indica el nombre de su sección; su función principal es desarrollar nuevos productos así como encontrar nuevos usos para los productos viejos. No es necesario que tengas experiencia previa en cada ensayo experimental o procedimiento de laboratorio para llegar a ser un técnico de laboratorio. Una buena empresa siempre te enseñará lo que necesites saber para realizar el trabajo específico; sin embargo, todos los técnicos de laboratorio deben tener buenas habilidades de laboratorio y ser organizados, con dedicación al detalle, estar motivados y, lo más importante, estar entusiasmados con su trabajo.

Una desventaja potencial de trabajar en la industria biofarmacéutica es que todo el trabajo se hace a medida en torno al desarrollo, la producción y la venta de un producto. La creatividad y la originalidad no siempre van asociadas a la rutina diaria del laboratorio. Por ejemplo, en Estados Unidos, el entorno de trabajo suele estar muy controlado porque todas las operaciones están reguladas por la FDA (Administración de Alimentos y Fármacos) y han de ser documentadas con mucho rigor. También, la mayoría de los productos se producen mediante procesos biológicos, lo que significa que los horarios de trabajo están directamente vinculados al proceso biológico, como esperar a que las células crezcan hasta conseguir la densidad correcta. En algunos casos, esto puede resultar en semanas más cortas de trabajo u horas de trabajo menos estructuradas.

En la industria biofarmacéutica, el entorno de trabajo suele estar caracterizado por un ritmo rápido que, además, es muy cambiante y siempre exige que sus empleados trabajen duro y con eficiencia. Cada día presenta nuevos obstáculos y retos, lo que hace que trabajar en esta industria sea tan emocionante.

Contribución de Robert Sexton (Licenciado en Ciencias Biológicas, M.B.A. de la Universidad Monmouth), Asuntos Reguladores, Calidad y Cumplimiento, Sanofi-Aventis.

Genómica de la Edad de Piedra

Otro ejemplo de cómo la genómica ha sustituido áreas del análisis del DNA: varios laboratorios del mundo se están ocupando de analizar DNA «antiguo». Estos estudios están generando datos fascinantes a partir de cantidades minúsculas de DNA antiguo de los huesos y de otros tejidos de muestras fósiles con decenas de miles de años de antigüedad. Los análisis de DNA procedentes de momias egipcias de hace 2.400 años, mamuts, osos de la edad del Pleistoceno y neandertales son algunos de los ejemplos más llamativos de la **genómica de la Edad de Piedra,** también denominada **paleogenómica.** En 2005, los investigadores de la Universidad McMaster de Canadá y la Universidad Estatal de Pennsylvania publicaron datos de la secuencia parcial (unos 13 millones de pb) de un mamut lanudo de hace 27.000 años. Este estudio mostró que hay aproximadamente un 98,5 por ciento de similitud en la secuencia de un mamut y la de un elefante africano.

Un equipo de científicos liderados por Svante Pääbo, del Instituto Max Planck de Antropología Evolutiva de Alemania, quiere producir un borrador del genoma del hombre de Neandertal (*Homo neanderthalensis*) en un par de años. En 1997, un equipo liderado por Pääbo secuenció fragmentos del DNA mitocondrial del hombre de Neandertal a partir de un fósil. A finales de 2006, el grupo de Pääbo, junto con varios científicos de Estados Unidos, informó de la primera secuencia de unas 65.000 pb de DNA nuclear aislado del hueso de una muestra de Neandertal de hace 38.000 años proveniente de Croacia. Como los neandertales son parientes cercanos de los seres humanos, se espera que la secuenciación del genoma del neandertal proporcione una inestimable oportunidad para utilizar la genómica comparativa y avanzar en nuestra comprensión de las relaciones evolutivas entre seres humanos y seres humanos.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. Distingue entre clonación de genes, tecnología del DNA recombinante e ingeniería genética describiendo cada proceso y discutiendo cómo están interrelacionados. Da ejemplos de cada método tal y como se describe en este capítulo.
2. Describe la importancia de la DNA ligasa en un experimento de DNA recombinante. ¿Qué hace esta enzima y en qué se diferencia esta acción del funcionamiento de las enzimas de restricción?
3. Tu laboratorio acaba de determinar la secuencia del gen de una rata que se cree que está implicado en el control de la capacidad fertilizadora del esperma de la rata. ¿Crees que un gen similar podría controlar la fertilidad en los hombres? Describe brevemente cómo podrías utilizar lo que sabes acerca de este gen de rata combinado con PCR para clonar el gen humano complementario. Asegúrate de explicar tu método experimental y el material de laboratorio necesario. También explica en detalle cualquier procedimiento necesario para confirmar que tienes un gen humano que corresponde a tu gen de rata.
4. ¿Qué características de los vectores plasmídicos de clonación los hace útiles para clonar el DNA? Da ejemplos de diversos tipos de vectores de clonación y discute sus aplicaciones en biotecnología.
5. Si realizaras un experimento de PCR que empezara con una sola copia de DNA de doble cadena, ¿aproximadamente cuántas moléculas se producirían después de 15 ciclos de amplificación?
6. Compara y contrasta las bibliotecas genómicas con las bibliotecas de cDNA. ¿Qué tipo de biblioteca utilizarías en primer lugar si intentaras clonar un gen en adipocitos (células grasas) que codifican una proteína que se cree implicada en la obesidad? Explica tu respuesta. ¿Qué tipo de biblioteca elegirías si quisieras clonar elementos reguladores de los genes como secuencias promotoras y secuencias potenciadoras?
7. Visita la Online Mendelian Inheritance en Man Site (OMIM) que aparece en la página web adjunta, después haz clic en «Search the OMIM database» (Buscar la base de datos OMIM). Escribe «diabetes» en el recuadro de búsqueda y haz clic en «Submit Search» (Enviar búsqueda). ¿Qué has encontrado? Escribe «114480» en el recuadro de búsqueda. ¿Qué ha pasado esta vez? Otra cosa que puedes hacer es buscar un gen que te interese y mirar lo que puedes encontrar en OMIM. Si los resultados de tu búsqueda en OMIM son demasiado técnicos, visita la sección «Genes & Disease» (Genes y enfermedades) del sitio web del NCBI de la página web adjunta y luego busca «diabetes».
8. El análisis de las secuencias de DNA utilizando programas informáticos (*software*) ha simplificado mucho a los biólogos moleculares el estudio de la estructura de los genes. Esta actividad está diseñada para que puedas experimentar las aplicaciones del *software* de análisis del DNA. Imagina que la siguiente secuencia corta de nucleótidos, GGATCCGGCCGGAATTCGTA, representa una hebra de un gen importante que te han enviado por correo electrónico para tu proyecto de investigación. Antes de que puedas continuar tu investigación, has de descubrir qué enzimas de restricción, si es que hay alguna, cortan este fragmento de DNA. Ve al sitio Webcutter de la página web adjunta. Avanza la página hasta que veas un cuadro de texto titulado «Paste the DNA sequence into the Box Below» (Pega la secuencia de DNA en el recuadro inferior). Escribe la secuencia de tu fragmento de DNA en ese recuadro. Avanza la página, dejando todos los parámetros por defecto hasta que veas «Please Indicate Which Enzimes to incluye in the Analysis» (Por favor, indica qué enzimas hay que in-

cluir en el análisis). Haz clic en «Only the following enzymes:» (Sólo las enzimas siguientes:) después utiliza el menú desplegable y selecciona *Bam*HI. Avanza hasta el final de la página y haz clic en el botón «Analyze sequence» (Analizar secuencia). ¿Qué has descubierto? ¿Puede *Bam*HI cortar tu secuencia? Analiza esta secuencia en otros sitios de corte para contestar las preguntas siguientes. ¿Puede *Eco*RI cortar esta secuencia? ¿Y *Sma*I? ¿Qué ocurre si haces una búsqueda y escaneas sitios de corte con todas las enzimas que hay en la base de datos?

9. Ve a la sección de biología molecular de la página web del Proyecto de Biología de la Universidad de Arizona (http://www.biology.arizona.edu/molecular_bio/problem_sets/Recombinant_DNA_Technology/recombinant_dna.html). Entra en «Recombinant DNA Technology» (Tecnología del DNA recombinante) y pon a prueba tus conocimientos sobre la tecnología del DNA recombinante contestando a las preguntas que te proponen en este sitio web.

10. Busca en la web la empresa Sciona, que comercializa el equipo de evaluación Cellf DNA para nutrigenómica. ¿Piensas que se deberían utilizar equipos como éste aunque estén mayormente basados en información sin pruebas?

11. ¿Cuál es la diferencia estructural entre un desoxirribonucleótido (dNTP) y un didesoxirribonucleótido (ddNTP) utilizado en la secuenciación del DNA?

12. Describe varios de los hallazgos del Proyecto del Genoma Humano.

Bibliografía y lecturas complementarias

Campbell, A. M., and Heyer, L. J. (2007). *Discovering Genomics, Proteomics, and Bioinformatics,* 2e. San Francisco: Benjamin Cummings.

Chaudhuri, J. D. (2005). Genes Arrayed Out for You: The Amazing World of *Microarray*s. *Medical Science Monitor,* 11: RA52–62.

Church, G. M. (2006). Genomes for All. *Scientific American,* 294: 47–54.

Hercher, L. (2007). Diet Advice from DNA? *Scientific American,* 297: 84–89.

IHGS Consortium. (2001). Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome. *Nature,* 409: 860–891.

IHGS Consortium. (2004). «Finishing the Euchromatic Sequence of the Human Genome.» *Nature,* 431: 931–945.

Krane, D. E., and Raymer, M. L. (2003). *Fundamental Concepts of Bioinformatics.* San Francisco: Benjamin Cummings.

Lau, N. C., and Bartel, D. P. (2003). Censors of the Genome. *Scientific American,* 289: 34–41.

Noonan, J. P., Coop, G., Kudaravalli, S., et al. (2006). Sequencing and Analysis of Neanderthal DNA. *Science,* 314: 1113–1118.

Palladino, M. A. (2006). *Understanding the Human Genome Project,* 2e. San Francisco: Benjamin Cummings.

Pennisi, E. (2006). The Dawn of Stone Age Genomics. *Science,* 314: 1068–1071.

Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., et al. (2001). The Sequence of the Human Genome. *Science,* 291: 1304–1351.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo **4**

Las proteínas como productos

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Describir la estructura molecular de las proteínas en términos generales.
- Dar tres ejemplos de aplicaciones médicas de las proteínas.
- Explicar el uso industrial de algunas enzimas producidas mediante biotecnología.
- Nombrar productos domésticos corrientes que puedan contener proteínas manufacturadas entre sus ingredientes.
- Comentar las ventajas y desventajas del origen microbiano, fúngico, vegetal y animal para la expresión proteica.
- Explicar por qué se usa frecuentemente *E. coli* en la producción de proteínas.
- Explicar por qué la glucosilación de proteínas puede determinar la elección de un sistema de expresión proteica.
- Describir un esquema global para la purificación proteica de la hemoglobina.
- Explicar cómo se separa la proteína diana de otras proteínas celulares en una secuencia de purificación determinada.
- Explicar qué es la proteómica y cómo influirá los futuros estudios acerca de las proteínas.



Supervisor de laboratorio preparando una columna de purificación para separar un producto biológico comercial.

4.1 Introducción a las proteínas como productos biotecnológicos

Los bosques tropicales, las profundidades del océano, los géiseres hirvientes de Yellowstone National Park y los esqueletos de ballena: son las fronteras de la búsqueda científica de proteínas. Las **proteínas** son grandes moléculas necesarias para la estructura, función y regulación de las células vivas. Cada molécula de proteína tiene una función única en las reacciones bioquímicas que sustentan la vida. A medida que los investigadores exploran las proteínas presentes en la naturaleza, descubren los secretos que gobiernan el crecimiento, aceleran la descomposición química y nos protegen de enfermedades.

Las aplicaciones de las proteínas son tan numerosas como las propias proteínas. Consideremos los esqueletos de ballena, por ejemplo. Durante el proceso de descomposición natural, los huesos suelen ser colonizados por bacterias, algunas de las cuales han evolucionado especialmente para digerir los residuos grasos de los huesos. Las proteínas que la bacteria produce para descomponer las grasas están adaptadas a las gélidas aguas de las profundidades marinas. Los investigadores se dieron cuenta de que una sustancia con la capacidad de disolver grasas a baja temperatura sería un estupendo aditivo para los detergentes de lavadora comerciales.

Incluso aunque se descubra la naturaleza de una proteína y una aplicación se corresponda a sus características, se necesita mucho ingenio para producir proteínas con la calidad y cantidad necesarias para un uso comercial. Por ejemplo, si planeamos la producción en masa de un fantástico detergente nuevo para agua fría, no podemos contar con un suministro ilimitado de esqueletos de ballena, sino que debemos encontrar otra fuente de esas proteínas. Afortunadamente, la biotecnología puede facilitar la producción de prácticamente cualquier proteína. En este capítulo examinaremos esos procesos de producción.

En el año 2000, los *National Institutes of Health* (Institutos Nacionales de la Salud de EE.UU.) pusieron en marcha la *Protein Structure Initiative* (Iniciativa para la estructura proteica), un programa de 600 millones de dólares y diez años de duración para identificar la estructura de las proteínas humanas. Este gigantesco proyecto para conocer mejor la estructura de las proteínas ayudará a los investigadores a comprender mejor su función. Hasta ahora, se han identificado más de 1.200 estructuras proteicas, y se ha avanzado en el conocimiento de la relación entre una secuencia génica y una estructura proteica. La base de datos pública que pertenece al proyecto contiene actualmente más de 33.000 secuencias proteicas, lo que significa que sólo se ha descubierto la estructura de un 5 por ciento. El principal objetivo del proyecto es ser capaz de modelar estructuras proteícas desconocidas basándose en comparaciones estructurales con las almacenadas en la base de datos.

El capítulo empieza con un resumen rápido de las muchas aplicaciones de las proteínas en distintas industrias. A continuación se ocupa de la naturaleza de las estructuras proteicas, prestando especial atención al proceso de plegamiento de proteínas. Con estas bases, explorará algunos de los detalles del procesamiento de proteínas, empezando con los métodos de expresión proteica. Después aborda la purificación de proteínas y examina los procesos utilizados para analizar y verificar el producto final. Aunque no hay un método óptimo para procesar proteínas, existen varias técnicas de uso habitual, mostradas en la Figura 4.1. En este capítulo se estudian esas técnicas de uso habitual, teniendo en cuenta que el procesamiento proteico concreto cambia en cada caso.

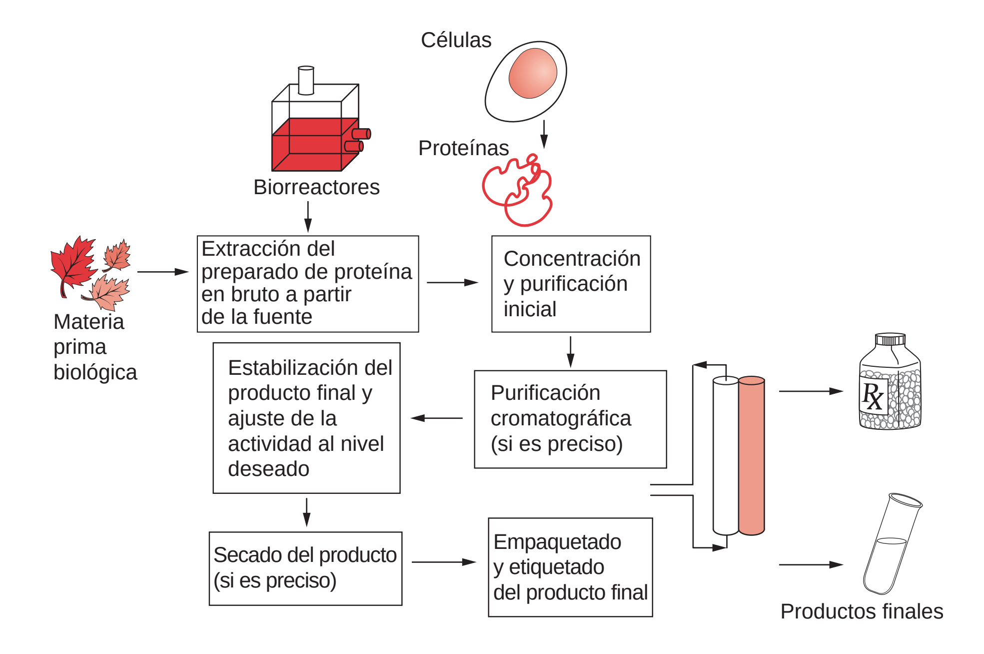


Figura 4.1 Pasos básicos del bioprocesamiento Se pueden realizar purificaciones a partir de la materia prima o de biorreactores. Los pasos del proceso deben ser diseñados y a menudo son exclusivos (y patentables).

4.2 Las proteínas como productos biotecnológicos

El uso de proteínas en procesos de manufacturación es una tecnología probada desde hace mucho tiempo. Por ejemplo, dos de los intentos más antiguos de procesar alimentos dependen de las proteínas: la fabricación de cerveza y de vino. La fermentación, utilizada en la producción de cerveza y vino, depende de las enzimas producidas por la levadura y otras añadidas al lote. La producción de quesos es otra industria que siempre ha usado proteínas, y gracias a la bioingeniería, la fuente de proteínas usada actualmente procede de bacterias manipuladas mediante ingeniería (que sustituyen a los estómagos bovinos que proporcionaban la enzima productora de queso tradicionalmente). Aunque la utilidad de las proteínas en la producción de alimentos era obvia desde hacía mucho tiempo, no se pudo avanzar en este conocimiento hasta la década de 1970, cuando se desarrolló la tecnología del DNA recombinante y fue posible producir proteínas concretas a demanda. Desde ese momento, la producción de proteínas ha sido la fuerza motriz del desarrollo de nuevos productos en una gran variedad de industrias.

Muchas de estas aplicaciones dependen de la función de la capacidad de un grupo de proteínas llamadas **enzimas** de acelerar reacciones químicas. Innumerables industrias se basan en la degradación de grandes moléculas que realizan las enzimas, un proceso llamado **despolimerización.** Estas enzimas incluyen las que hidrolizan hidratos de carbono, como la **amilasa,** que descompone el almidón; **proteasas,** que descomponen otras proteínas; y **lipasas,** que degradan las grasas. Esas enzimas (como la quimosina) se usan en la producción de alimentos y bebidas y en varias industrias procesadoras, como muestra la Figura 4.2.

Las **hormonas** que llevan mensajes químicos y los **anticuerpos** que protegen al organismo de enfermedades son otros dos grupos de proteínas producidas comercialmente, básicamente para la industria médica. Las hormonas también se utilizan en agricultura. Por ejemplo, las hormonas pueden estimular que arraiguen esquejes vegetales y facilitar un crecimiento más rápido en los animales usados como carne. (En los Capítulos 6 y 7 se aborda en detalle los usos de las hormonas en la agricultura.)

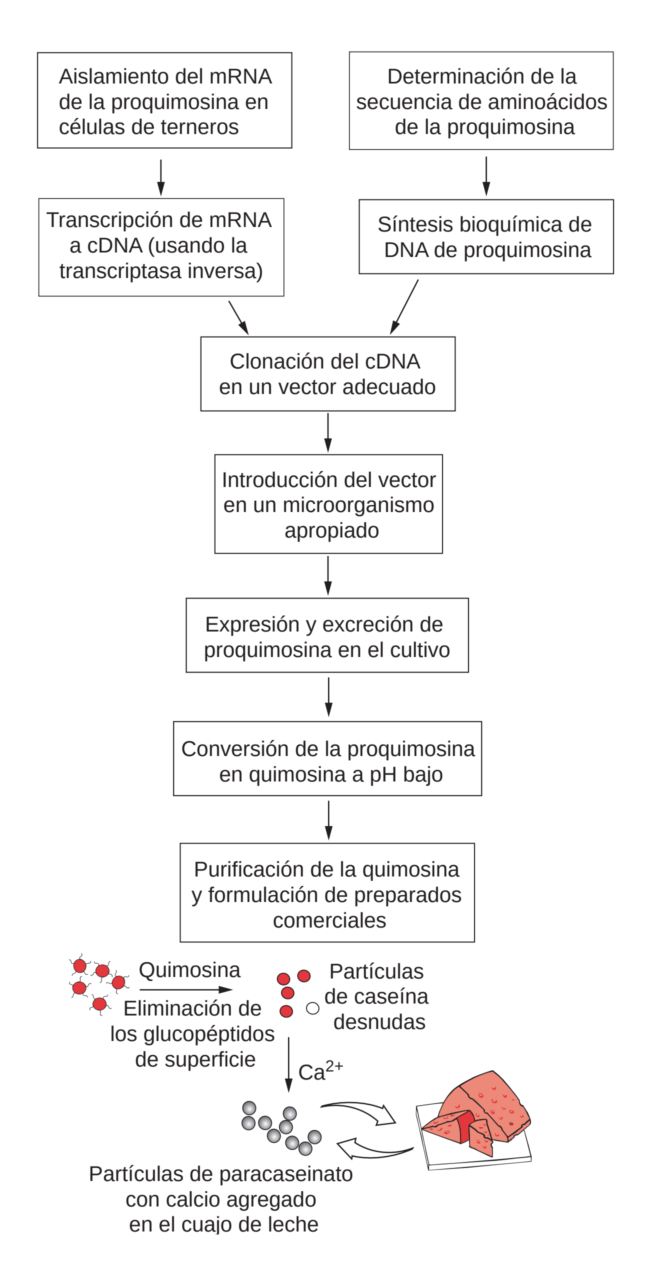


Figura 4.2 Producción de queso La caseína, el principal ingrediente del queso, es el resultado de una reacción química que depende de la quimosina. Esta enzima se ha obtenido de la pared gástrica de terneros lactantes durante siglos. Hoy en día, el 80 por ciento de la quimosina usada se produce (y purifica) a partir de células modificadas genéticamente.

Producción de un fármaco biotecnológico

Las proteínas terapéuticas, como los anticuerpos monoclonales, proteínas sanguíneas y enzimas producidas por organismos vivos para combatir enfermedades, se pueden considerar fármacos biotecnológicos. Al contrario que otras medicinas, los fármacos biotecnológicos no se producen por síntesis (es decir, síntesis química añadiendo un componente cada vez) sino que suelen producirse mediante fermentación microbiana o cultivo de células de mamíferos. Hoy en día, hay casi 400 nuevas medicinas biotecnológicas en proyecto, y la mayoría son proteínas. Si todas ellas tienen éxito en los ensayos, se sumará un número muy significativo a los aproximadamente 40 fármacos biotecnológicos ya en uso.

La producción de fármacos biotecnológicos es un proceso complicado y largo. Los investigadores pueden tardar muchos años sólo en identificar la proteína terapéutica relevante, determinar su secuencia génica y descubrir un proceso para fabricar las moléculas necesarias mediante biotecnología. Una vez determinado el método

para producir fármacos biotecnológicos, los técnicos pueden producir grandes lotes de los productos proteicos cultivando las células huéspedes que han sido transformadas para contener el gen terapéutico en condiciones cuidadosamente controladas en un biorreactor. (Un biorreactor es cualquier sistema cerrado de producción biológica diseñado para promover reacciones enzimáticas.) Se estimula a las células para producir las proteínas diana en unas condiciones de cultivo precisas que incluyen un equilibrio de temperatura, oxígeno, acidez y otras variables. En el momento adecuado (cuya duración varía según la proteína producida y el tipo de organismo), se aíslan las proteínas de los cultivos, se comprueban estrictamente en cada paso de la purificación (como se explica más adelante en este capítulo), y se transforman en productos farmacéuticos activos. Los técnicos de manufacturación deben cumplir estrictamente las regulaciones de la *Food and Drug Administration* (FDA; organismo regulador de alimentos y fármacos de Estados Unidos) en todas las fases del procedimiento (véanse ejemplos de estas regulaciones en el Capítulo 12).

Aplicaciones médicas

Las proteínas biotecnológicas han revolucionado la atención sanitaria y las industrias farmacéuticas en las últimas décadas. Muchas enfermedades, desde aquellas frecuentes como la diabetes hasta otras raras como la enfermedad de Gaucher, pueden tratarse administrando las proteínas que faltan. En el caso de la diabetes, la proteína que falta es la hormona insulina. Hasta no hace mucho, la insulina tenía que ser recogida de cerdos o vacas. Esto no era lo mejor, porque los organismos humanos a menudo rechazaban esta proteína ajena. Los investigadores solucionaron el problema mediante una fuente insospechada, la bacteria *Escherichia coli (E. coli).* Al insertar genes humanos en *E. coli,* crearon fábricas de insulina microscópicas. (Más adelante, en este capítulo, se detalla el sorprendente uso de organismos sometidos a ingeniería genética como fuente de proteínas.) La FDA aprobó esta nueva insulina en 1982, convirtiéndola en el primer fármaco de DNA recombinante. La capacidad de producir un suministro abundante de insulina humana ha mejorado la salud y la vida de millones de personas. (La Tabla 4.1 enumera algunos otros productos farmacéuticos basados en proteínas.)

Otro ejemplo del uso de las proteínas en el tratamiento sanitario es la enfermedad de Gaucher. En esta rara enfermedad, una mutación provoca la acumulación de grasas en el organismo, incluso en el cerebro. Sin tratamiento, la enfermedad es mortal. El tratamiento actual consiste en el reemplazamiento de por vida de la enzima que falta, y es extremadamente caro. La placenta humana es la única fuente de esta enzima, y para obtener

Tabla 4.1 ALGUNOS PRODUCTOS FARMACÉUTICOS CONSISTENTES EN PROTEÍNAS (LA MAYORÍA PRODUCIDOS COMO PROTEÍNAS RECOMBINANTES)

Proteína	Aplicación
Eritropoyetinas	Tratamiento de la anemia
Interleucinas 1, 2, 3, 4	Tratamiento del cáncer, sida, inmunosupresión causada por radiación o fármacos
Anticuerpos monoclonales	Tratamiento del cáncer, artritis reumatoide; fines diagnósticos
Interferones (α, β, γ, incluyendo consenso)	Tratamiento del cáncer, alergias, asma, artritis y enfermedades infecciosas
Factores estimulantes de colonias	Tratamiento del cáncer, neutropenia, coadyuvante a la quimioterapia, tratamiento del sida
Factores de la coagulación	Tratamiento de la hemofilia y trastornos de la coagulación relacionados
Factor de crecimiento humano	Tratamiento del déficit de crecimiento en niños
Factor de crecimiento epidérmico	Tratamiento de las heridas, úlceras cutáneas, cáncer
Insulina	Tratamiento de la diabetes mellitus
Factor de crecimiento similar a insulina	Tratamiento de la diabetes mellitus tipo II
Factor plasminógeno tisular	Tratamiento tras el infarto de miocardio, infarto cerebral
Factor de necrosis tumoral	Tratamiento del cáncer
Vacunas	Vacunas contra la hepatitis B, malaria, herpes

Tabla 4.2 ALGUNAS ENZIMAS Y SUS APLICACIONES INDUSTRIALES

Enzima	Aplicación
Amilasas	Digerir almidón en fermentación y procesamiento
Proteasas	Digerir proteínas para detergentes, carne/cuero, queso, producción de cerveza/panadería, ayuda digestiva animales/humanos
Lipasas	Digerir lípidos (grasas) en productos grasos de origen vegetal y animal
Pectinasas	Digerir enzimas del zumo/pulpa de fruta
Lactasas	Digerir el azúcar de la leche
Glucosa isomerasa	Producir jarabes con alto contenido en fructosa
Celulasas/ hemicelulasas	Producir piensos animales, zumos de fruta, convertidores en la producción de cerveza
Penicilina acilasa	Producir penicilina

una dosis hacen falta entre 400 y 2.000 placentas. Gracias a la biotecnología, es posible que dentro de unos años obtengamos esta enzima esencial a partir de plantas de tabaco modificadas genéticamente.

Además de la industria farmacéutica, también los fabricantes están obteniendo beneficios de estas proteínas obtenidas por ingeniería genética. Las enzimas (proteínas) sirven para múltiples propósitos, como mejorar la eficacia de los detergentes, incrementar el flujo en las perforaciones petrolíferas o mejorar la limpieza de las lentes de contacto. (En la Tabla 4.2 se enumeran algunos productos industriales basados en proteínas.)

Procesamiento de alimentos

Hay muchos ejemplos de usos industriales de enzimas en cualquier cocina. Durante décadas, la industria de procesamiento de alimentos ha usado proteínas para mejorar los alimentos infantiles, la fruta enlatada, quesos, productos horneados, postres y alimentos dietéticos. Las mejoras son muy variadas.

En el pan, por ejemplo, se pueden usar proteínas para facilitar que la levadura actúe sobre el almidón, permitiendo que la masa suba más rápido. Como resultado, la masa de pan es más fácil de manipular, y la textura es más consistente. Esa misma barra de pan puede deber su apetitosa corteza tostada a aditivos enzimáticos que degradan el almidón y favorecen la caramelización, que es la fuente de ese color marrón dorado.

La fruta del fondo del yogur es más firme, los refrescos tienen una fecha de caducidad más larga y el helado tiene una textura más suave y mejores características de congelación porque se usan productos proteicos en su producción.

Textiles y artículos de cuero

En el armario se pueden encontrar otros ejemplos de proteínas industriales. Durante más de un siglo, se han usado enzimas en la industria textil para degradar los almidones usados para el tallaje de los productos durante su manufactura. Las enzimas también están reemplazando a los agresivos productos químicos y procesos utilizados para aclarar y ablandar tejidos. El uso de bio-blanqueantes enzimáticos reduce la necesidad de blanqueantes ordinarios y la prolongada limpieza, costosa para el medio ambiente, necesaria tras su uso.

Las prendas de lana también pueden haber sido mejoradas con enzimas que han sustituido a las desagradables sustancias químicas usadas para lavar la lana, ablandarla, o hacer que no encoja. Las chaquetas, los zapatos o cinturones de cuero, probablemente también han sido procesados con enzimas. De hecho, la producción de cuero siempre ha dependido de proteínas para eliminar pelo y piel de las piezas y ablandar el tejido y hacerlo manejable. Sin embargo, aún quedaba hueco para mejorar esta tecnología, y el cuero actual es más suave, limpio y fuerte por los nuevos productos proteicos de la biotecnología.

La industria textil tiene muchas más funciones que llenar el armario. Productos no tejidos, como los geo-textiles usados como mantillo, para el control de la erosión y construcción de carreteras, incluyen fibras de lino, cáñamo y yute procesadas con enzimas. Estas fibras también se utilizan en los paneles reductores de ruido de muchos coches. En el futuro, el filtro del aire del coche también podría estar hecho de fibras procesadas con enzimas.

Detergentes

Como se mencionó antes, cuando se añaden ingredientes enzimáticos a los detergentes, limpian mejor y son más biodegradables. Los detergentes de lavadora aprovechan las funciones específicas de las proteasas, lipasas y amilasas para disolver manchas en agua fría. Las enzimas de los detergentes también se han hecho más potentes, de modo que pueden eliminar residuos invisibles que facilitan que el tejido vuelva a ensuciarse. En la etiqueta de muchos quitamanchas para la ropa, verás que las enzimas aparecen como primer ingrediente activo (y en algunos casos, el único). Los lavavajillas incluyen enzimas que disuelven proteínas y almidones. Sin enzimas no podrían eliminarse algunas manchas y restos de los platos.

Manufactura y reciclaje de papel

Las máquinas de producción de papel a gran velocidad pueden enlentecerse o incluso detenerse cuando se acu-

mula grasa en las partes móviles, pero los productos proteicos pueden eliminarla y mantener las fábricas trabajando a toda velocidad. Los productos proteicos también han reducido el impacto ambiental negativo de la industria papelera. Antes, se utilizaban nocivos blanqueantes clorados para aclarar el papel. Ahora se pueden usar enzimas para hacer lo mismo, lo que tiene como resultado una menor contaminación. Incluso el reciclaje del papel se aprovecha de las enzimas. El papel de oficina, por ejemplo, tiene que ser «destintado», y las enzimas facilitan este proceso, haciendo que el papel reciclado sea más barato y por tanto aumente su demanda.

Adhesivos: pegamentos naturales

Si alguna vez has intentado arrancar un mejillón o percebe de una roca de la marisma, ya conoces la excelencia de los adhesivos proteicos naturales. El pegamento resistente al agua que adhiere los mejillones a las rocas está compuesto por varios tipos de proteínas. Los adhesivos proteicos naturales son potentes y resistentes al agua, lo que les convierte en ideales para una gran variedad de aplicaciones biotécnicas. Un gran ejemplo en el campo de la medicina: como estos adhesivos naturales son inocuos, biodegradables y rara vez provocan una respuesta inmunológica, se pueden usar para reparar tendones y tejidos, rellenar caries dentales y arreglar huesos rotos.

La investigación sobre los adhesivos naturales también podría tener otros beneficios. La industria naval está plagada de mejillones y otros moluscos que se unen a los cascos de barcos y a otros equipos submarinos. Si los científicos aprendieron más sobre los pegamentos proteicos producidos por estas criaturas, quizás descubran un inhibidor biodegradable que pueda prevenir este problema, lo que a su vez podría permitir que la biotecnología de proteínas solucionara otros problemas.

Biosoluciones: tratamiento de la contaminación mediante proteínas

Además de reducir los contaminantes de desecho de los procesos industriales, las proteínas también se pueden usar para limpiar basura nociva. Los residuos orgánicos de cebaderos de ganado, casas y negocios suponen una amenaza creciente para el medio ambiente, especialmente de los ecosistemas acuáticos. Se pueden usar enzimas para digerir los desechos orgánicos antes de que provoquen problemas.

Otra prometedora y novedosa aplicación de las proteínas es la neutralización de los «metales pesados» contaminantes como el mercurio y el cadmio. Estos peligrosos elementos pueden perdurar en el ambiente, dañando organismos a lo largo de toda la cadena alimenticia. Como son metales, son inmunes a la degradación enzimática, pero eso no significa que no se puedan utilizar proteínas para neutralizarlos (véanse los detalles de este proceso en el Capítulo 9). Mediante bioingeniería, podemos crear microorganismos que posean una capa pegajosa de **metalotioneínas,** proteínas capaces de capturar los metales pesados. En este caso, el contaminante no se descompone ni se degrada, sino simplemente se hace menos peligroso. Cuando los metales tóxicos están unidos a bacterias, es menos probable que sean absorbidos por plantas o animales.

Los investigadores están usando actualmente el poder de la ingeniería genética para crear armas biológicas nuevas y mejores que ataquen y destruyan sustancias tóxicas. Como el proceso de investigación depende a veces de los genes mezclados al azar en bacterias, las enzimas producidas por los genes barajados pueden ser más o menos reactivas que las naturales. En cierto modo, los científicos están acelerando el proceso de mutación aleatoria y evolución con la esperanza de describir nuevas proteínas anticontaminación más eficaces, como se describe en detalle en el Capítulo 9.

TÚ DECIDES

Poner a prueba el mejor producto: ¿quién debería pagar?

Como se indica en otro lugar del capítulo, cuesta unos 500 millones de dólares poner un fármaco en el mercado. En este coste está incluido el precio de los fármacos que no son aprobados, generalmente debido a algunas reacciones adversas o a su ineficacia. Habitualmente, el proceso de purificación ha sido desarrollado y el producto está en fase de ensayos en personas cuando esto sucede. Aunque los costes de los fármacos son a menudo altos, mucha gente no se da cuenta de que estos precios incluyen el coste de la investigación acerca de productos que no llegan a ser una medicina. Si también añadimos la capacidad de determinar qué fármaco es mejor para cada paciente (farmacogenómica, Capítulo 1) al coste de poner un fármaco en el mercado, el precio aumenta aún más. Como se supone que las empresas de biotecnología deben obtener beneficios para sus accionistas, es más beneficioso para la empresa hacer que todo el mundo compre su fármaco, aunque éste no sea totalmente apropiado para ellos. ¿Cuál crees que es la mejor solución: mayores precios y mejores fármacos, o precios más bajos y fármacos que no siempre funcionan?

4.3 Estructura de las proteínas

Como señala el Capítulo 2, los ribosomas son las fábricas que forman proteínas. Para entender los procesos de expresión y recogida de proteínas, hay que examinar en detalle la estructura molecular de las proteínas.

Las proteínas son moléculas complejas compuestas por cadenas de aminoácidos. Como todas las moléculas, las proteínas tienen pesos moleculares específicos. También tienen una carga eléctrica que las hace interaccionar

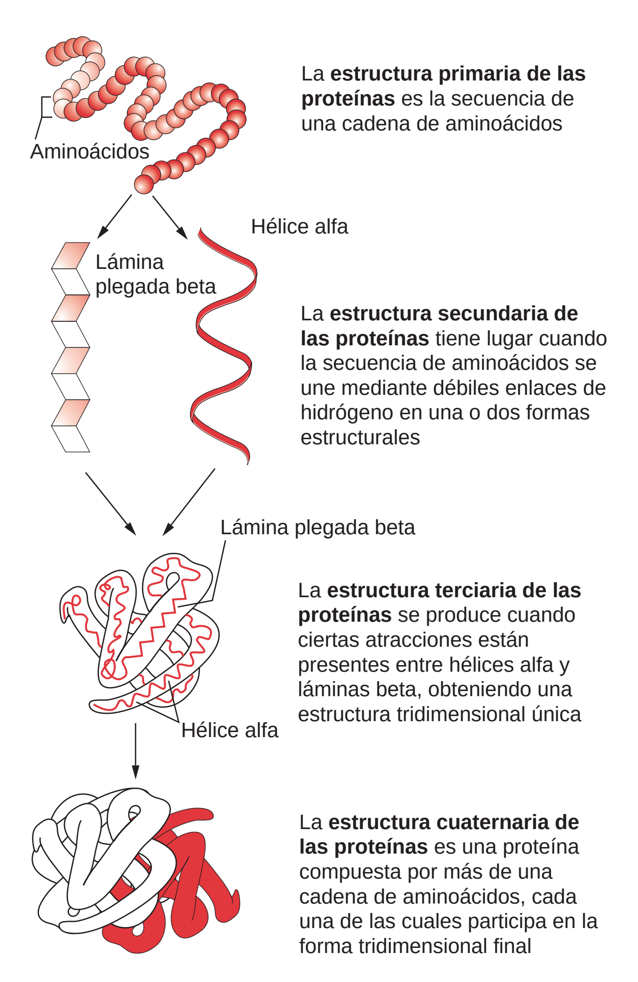


Figura 4.3 Los cuatro niveles de estructura de las proteínas Es necesario que las proteínas se plieguen correctamente para alcanzar toda su capacidad funcional. Los métodos de purificación deben garantizar que se conserva el plegamiento apropiado.

con otros átomos y moléculas. La capacidad de interaccionar es la clave de la actividad biológica de las proteínas. Considera, por ejemplo, el modo en que la estructura química y la carga eléctrica de un aminoácido afecta a su interacción con el agua: la molécula será **hidrófila** (amiga del agua, si el aminoácido sufre una atracción magnética hacia las moléculas del agua) o **hidrófoba** (enemiga del agua, si las moléculas de agua y el aminoácido se repelen magnéticamente uno al otro).

Organización estructural

Las proteínas pueden tener cuatro niveles de organización estructural, todos ellos dependientes de la secuencia química específica de sus subunidades de aminoácidos (véase la Figura 4.3). Éstos son la estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria.

Estructuras primarias

Los 20 aminoácidos habituales son los ladrillos que forman las proteínas. Se pueden unir de 10 a 10.000 aminoácidos desde la cabeza a la cola. La secuencia en la que están unidos los aminoácidos se llama *estructura primaria*. La alteración de un único aminoácido de la secuencia puede provocar que la proteína pierda toda su función. Las enfermedades genéticas son a menudo el resultado de estas mutaciones proteicas.

Estructuras secundarias

Las estructuras secundarias de las proteínas se producen cuando las cadenas de aminoácidos se pliegan o giran en puntos concretos, formando nuevas formas por la creación de enlaces de hidrógeno entre los aminoácidos. Las formas más frecuentes, las hélices alfa y las láminas plegadas beta, se describen en detalle en la sección sobre el plegamiento de las proteínas. Tanto la hélice como las estructuras en lámina se producen porque son las estructuras más estables que pueden asumir las proteínas. En otras palabras, estas formas son las que menos energía cuesta mantener.

Estructuras terciarias

Las estructuras terciarias de las proteínas son polipéptidos (grandes moléculas compuestas por muchas moléculas similares y más pequeñas) tridimensionales que se forman cuando las estructuras secundarias se combinan y se unen entre sí. Los enlaces que mantienen unidas las estructuras terciarias tienen lugar entre aminoácidos capaces de formar enlaces secundarios (como la cisteína, que puede formar enlaces disulfuro con otra cisteína adyacente, creando uniones cruzadas que dan una forma única a la proteína). Un ejemplo de una proteína con estructura terciaria es la enzima ribulosa bifosfato carboxilasa (rubisco). Esta enzima puede absorber energía directamente del sol, y desempeña un papel esencial en la fotosíntesis. Sin ella no existiría la vida.

Estructuras cuaternarias

Las estructuras cuaternarias de las proteínas son complejos únicos, tridimensionales y globulares, compuestos por varios polipéptidos. La hemoglobina, que transporta oxígeno en la sangre, es un ejemplo de proteína con estructura cuaternaria.

Plegamiento de proteínas

Todo lo que importa de una proteína (su estructura, su función) depende del plegamiento. El plegamiento explica cómo distintas hebras de aminoácidos adquieren su forma; por ejemplo, la anemia falciforme es el resultado de un plegamiento incorrecto debido a la sustitución de un único aminoácido en un lugar estratégico de la secuencia primaria. Si la proteína se pliega incorrectamente, no sólo se perderá la función deseada de la proteína, sino que la proteína mal plegada resultante puede ser dañina. Por ejemplo, las placas que aparecen en la enfermedad de Alzheimer se acumulan porque la proteína mal plegada no puede ser degradada por las enzimas de las células cerebrales.

El primer hito en el descubrimiento de las formas fundamentales de las proteínas se produjo en 1951. Los investigadores describieron dos estructuras regulares, llamadas α (alfa) y β (beta), que son los resultados más frecuentes del proceso de plegamiento proteico. Ambas disposiciones dependen de los enlaces de hidrógeno que unen las moléculas compuestas por cadenas de aminoácidos. Los investigadores han descubierto que las «placas» enmarañadas que son parte de las lesiones causadas al cerebro por la enfermedad de Alzheimer podrían ser el resultado de errores en el proceso de plegamiento de las proteínas. La fibrosis quística, la enfermedad de las vacas locas (encefalopatía espongiforme bovina, o BSE), muchas formas de cáncer y los infartos cardiacos se han relacionado con acúmulos de proteínas mal plegadas. Como el plegamiento natural de proteínas presenta problemas, es sencillo comprender por qué uno de los mayores retos de la biotecnología es entender y controlar el plegamiento en el proceso de producción.

Repaso rápido de química

Un átomo de hidrógeno es un simple protón rodeado por un electrón. El nitrógeno y el oxígeno son estructuras «hambrientas de electrones». Cuando estos dos elementos contactan con átomos de hidrógeno, buena parte de la nube de electrones del hidrógeno se aleja, dejando al hidrógeno cargado positivamente. Si el átomo de hidrógeno con carga positiva contacta con un átomo con carga negativa, habrá una atracción entre los dos. Esta atracción se conoce como enlace de hidrógeno.

En la hélice alfa, los aminoácidos forman una espiral dextrógira. Los enlaces de hidrógeno estabilizan la estructura, uniendo un átomo de nitrógeno de un aminoácido con un átomo de oxígeno de otro aminoácido. Como las uniones se producen a intervalos regulares, se forma la espiral.

En la estructura en lámina beta, los enlaces de hidrógeno también unen átomos de nitrógeno y oxígeno; sin embargo, como los átomos pertenecen a cadenas de aminoácidos que discurren paralelas, se forma una lámina plana. Las láminas pueden ser «paralelas» (si todas las cadenas discurren en la misma dirección) o bien «antiparalelas» (en cuyo caso las cadenas alternan en dirección). Uno de los elementos fundamentales de la estructura proteica, el giro beta, tiene lugar cuando una cadena gira sobre sí misma para formar una lámina beta antiparalela. Aunque no sean totalmente aleatorias, otras disposiciones se conocen como «espirales aleatorias», aunque quizás deberían denominarse «espirales no periódicas».

Cualquiera que sea la estructura que adopte la proteína, es importante recordar que es frágil. Esos enlaces de hidrógeno pueden romperse fácilmente, dañando una valiosa proteína.

Glucosilación

Una vez sintetizada una proteína en los ribosomas, tienen lugar más de 100 **modificaciones postraduccionales** (la más frecuente de éstas es la glucosilación). En la **glucosilación,** se añaden unidades de hidratos de carbono (moléculas de azúcar) en lugares específicos de las proteínas (véase la Figura 4.4). Este cambio puede afectar significativamente la actividad de la proteína: puede aumentar su solubilidad y orientar proteínas hacia membranas y puede alargar la vida activa de la molécula en el organismo. Como la glucosilación puede alterar la bioactividad de las proteínas, puede influir sobre la cantidad de proteínas producidas en un organismo.

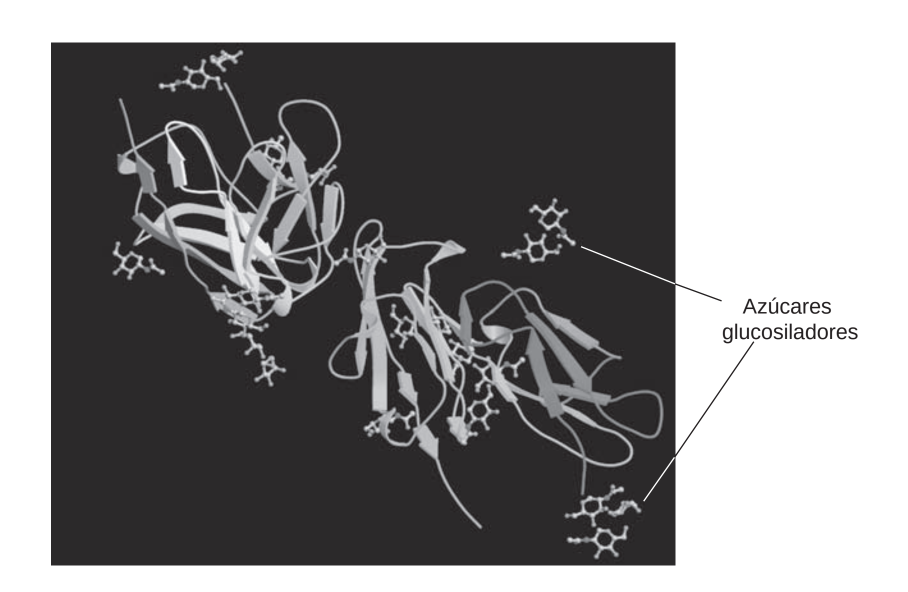


Figura 4.4 Estructura proteica tridimensional con cadenas laterales La glucosilación se produce en células eucariotas y probablemente alargue la vida de la proteína.

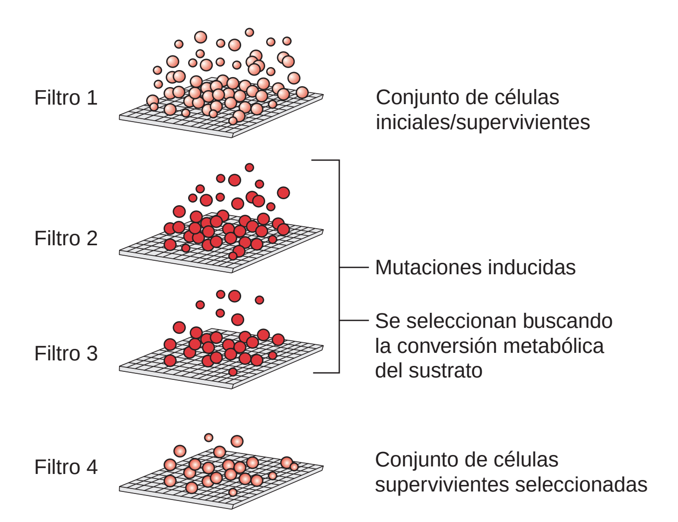


Figura 4.5 Tecnología de evolución molecular dirigida Los genes con proteínas valiosas pueden ser sometidos a mutaciones. Este proceso genera un grupo diverso de novedosas secuencias génicas. El gen producto se estudia en busca de propiedades exclusivas. Tras lograr una mejora predeterminada y medible, el proceso se puede repetir hasta obtener la máxima función. Al contrario que en la evolución por selección natural, este proceso se concentra en las propiedades de la proteína, no las del organismo, y puede lograr cambios que quizás nunca ocurran en la naturaleza. La empresa Maxygen, Inc. (www.maxygen.com) ha sido una precursora en la comercialización de esta tecnología.

Ingeniería de proteínas

En ciertos puntos de la ingeniería de proteínas, es útil introducir alteraciones específicas y predefinidas en la secuencia de aminoácidos. Esto puede hacerse con tecnología de evolución molecular dirigida. Una gran empresa de biotecnología, por ejemplo, induce mutaciones aleatorias en genes y después selecciona los organismos (bacterias) con el producto proteico (enzima) que tenga la máxima actividad. De este modo, han producido organismos (y enzimas industriales) que toleran una concentración de cianuro superior a 1,0 M. Esto es importante porque nunca se habría producido por evolución molecular «natural». Ningún ambiente natural ha soportado el cianuro en estas concentraciones. Los organismos seleccionados resultantes pueden usarse para mitigar la contaminación por cianuro resultante de la minería y otras acumulaciones de desechos industriales. Esto nunca sucedería por «selección natural» porque el ambiente no cambiaría tanto como para seleccionar estos tipos de supervivientes bacterianos. La evolución molecular dirigida precisa la introducción de cambios específicos en las secuencias de nucleótidos de un gen concreto, como muestra la Figura 4.5.

Estos genes modificados pueden entonces introducirse en una célula huésped, donde la secuencia de aminoácidos requerida se produce por parte del sistema huésped. Esta técnica permite que los investigadores creen proteínas con mejoras específicas. Al contrario que las mutaciones que suceden naturalmente, la evolución molecular dirigida se centra sólo en las mutaciones de un gen concreto y selecciona las mejores proteínas de ese gen, sin tener en cuenta los posibles beneficios que pueda tener para el organismo original. Por ejemplo, cuando *E. coli* fabrica insulina humana, no hay ningún beneficio para la bacteria. (Para más información sobre la evolución molecular dirigida, entra en la página web

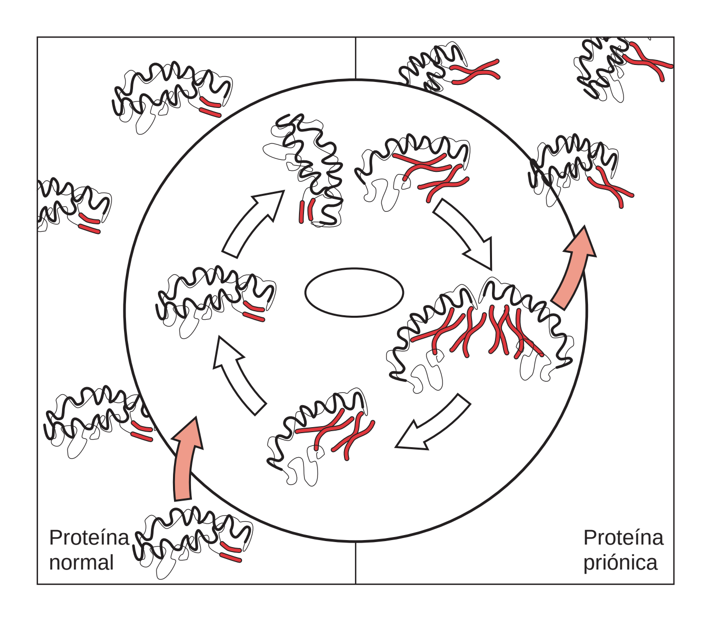


Figura 4.6 Los priones son proteínas mal plegadas El plegamiento incorrecto de las proteínas que tiene lugar en los trastornos por priones puede ser imitado en el laboratorio para producir grandes cantidades de proteínas priónicas, que después pueden estudiarse para crear herramientas diagnósticas.

de la Maxygen Corporation en www.maxygen.com –en inglés.)

Además de las proteínas naturales y producidas por mutaciones, la biotecnología también está creando moléculas proteicas totalmente nuevas. Estas moléculas, diseñadas y fabricadas en el laboratorio, señalan que podría ser posible inventar proteínas adaptadas a aplicaciones específicas. El plegamiento incorrecto de proteínas tiene lugar habitualmente en enfermedades provocadas por partículas proteicas infecciosas, llamadas **priones** (Figura 4.6). Estas proteínas infecciosas atraen proteínas celulares normales e inducen cambios en su estructura, que generalmente conducen a la acumulación de proteínas inútiles que dañan las células. Las enfermedades por priones pueden aparecer en ovejas y cabras (*scrapie,* tembladera) y vacas (encefalopatía espongiforme bovina, o enfermedad «de las vacas locas»). Entre las formas humanas de estas enfermedades destructoras de cerebros están el kiru y la **encefalopatía espongiforme transformable (TSE).** Todas estas enfermedades comparten cambios en la conformación de la proteína precursora del prión, una proteína presente habitualmente en neuronas

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Ensamblaje del proteoma humano

Los proteomas, el conjunto de proteínas asociado con una función vital específica, han ganado importancia desde el descubrimiento del genoma humano. Como se menciona en capítulos anteriores, el coste de poner un fármaco en el mercado ronda los 500 millones de dólares y habitualmente se tarda en lograrlo de cinco a ocho años. Como la mayoría de los fármacos producidos por la industria biotecnológica son proteínas (como factores de crecimiento, anticuerpos y hormonas sintéticas) que reemplazan proteínas ausentes o no funcionales en las personas, las empresas están especialmente interesadas en desarrollar micromatrices de proteínas. Similares a las micromatrices de DNA, estos minúsculos dispositivos detectan proteínas asociadas con enfermedades o aquellas presentes en concentraciones anormales. Inicialmente, estos biochips también se usaron para evaluar la propuesta de una empresa biotecnológica de desarrollar proteínas sustitutivas, antes de que emplearan grandes cantidades de tiempo y dinero.

Las micromatrices de proteínas tienen muchas ventajas. Como el número de genes descubiertos por el Proyecto del Genoma Humano es de aproximadamente un tercio de los esperados, por lo general se cree que los genes humanos codifican más de una proteína (véase una explicación de cómo ocurre esto en el Capítulo 3). La mayoría de los fármacos actuales funcionan al nivel de las proteínas, interaccionando con receptores, activando acontecimientos y dirigiéndose a otras proteínas en las células del organismo. Todos hemos vivido el beneficio de las proteínas que estimulan a nuestro sistema inmunológico para que reconozca organismos patógenos, sin sufrir la enfermedad: vacunación. Las diferencias estructurales de las proteínas hacen que sean más difíciles de detectar que distintas moléculas de DNA.

Aparte del hecho de que hay más proteínas diferentes que genes, las proteínas tienen un amplio intervalo de concentraciones (desde picogramos a microgramos) en el organismo. Como se describió anteriormente en este capítulo, las proteínas tienen propiedades químicas radicalmente distintas, según los tipos y cantidades de los distintos grupos de aminoácidos. Como la forma de cada proteína suele determinar su función (o no función), las proteínas son también más vulnerables a las lesiones estructurales que el DNA. Si vamos a desarrollar micromatrices que puedan detectar distintas proteínas en distintas cantidades, hay que tener en cuenta todos estos factores.

Las micromatrices pueden construirse con portaobjetos de cristal cubiertos con un material que se una a las proteínas. Habitualmente estos portaobjetos tienen un anticuerpo unido que es específico para la proteína que se desea detectar, así como un mecanismo indicador de que la captura ha tenido lugar. La empresa Cambridge Antibody Technology (Reino Unido) tiene una biblioteca de anticuerpos de más de 100.000 millones de anticuerpos recogidos de la sangre de individuos sanos. Packard BioScience (Connecticut, Estados Unidos) ha desarrollado portaobjetos cubiertos con acrilamida que permiten que la proteína añadida mantenga su forma tridimensional mientras está inmersa en el material que recubre los portaobjetos. La aplicación de los líquidos que serán detectados se basa en la tecnología del chorro de tinta y ha alcanzado los 20.000 puntos por portaobjetos estándar de microscopio. Por último, Ciphergen Biosystems (California, Estados Unidos) ha adaptado la espectroscopia de masas para realizar rápidas separaciones y detecciones en el chip, y análisis de proteínas directamente de muestras biológicas. Así pues, ¿qué queda por hacer?

Como veremos en el Capítulo 11, falta por descubrir incontables proteínas de numerosas enfermedades. La capacidad de diagnosticar una enfermedad y determinar el tratamiento más eficaz dependerá de la capacidad de purifcar proteínas y desarrollar anticuerpos que estén relacionados con la enfermedad. Aún queda por descubrir la mayor parte de la bioquímica de los procesos de enfermedad, y la mayoría de los trastornos relacionados con enfermedades se basan en las acciones de las proteínas. La oportunidad de cambiar trastornos humanos que eran antes inmodificables depende del descubrimiento y purificación de importantes proteínas del proteoma de la vida. Tómate la molestia de entrar en las páginas web de algunas de las empresas que desarrollan estos dispositivos para estar al día de esta importante tecnología (p. ej., en inglés, www.ciphergen.com o www.packardbioscience.com o www.biacore.com).

de mamíferos como glucoproteína de membrana. La incapacidad de detectar la enfermedad hasta que el animal infectado está enfermo o muerto ha complicado enormemente el control de estas enfermedades. En respuesta, la investigación biotecnológica ha intentado formar partículas infecciosas sintéticas que puedan ser estudiadas (véase la Figura 4.6), lo que ayudará a desarrollar métodos de detección y control.

4.4 Producción de proteínas

Hasta aquí, dos conceptos deberían estar claros: (1) las proteínas son valiosas, y (2) las proteínas son productos complejos y frágiles. Con estos puntos en mente, a continuación examinaremos el trabajo real de la biotecnología en la producción de proteínas.

Producir una proteína es un proceso largo y laborioso, y en cada fase hay muchos métodos de producción para elegir. Los expertos probablemente describirían el trabajo de producir proteínas como tedioso en su mejor momento y exasperante en el peor. Llamamos a las dos fases principales de la producción de proteínas ***upstream processing*** (etapas iniciales) y ***downstream processing*** (etapas finales). El *upstream processing* incluye la expresión de la proteína en la célula. Durante el *downstream processing,* la proteína primero se separa de otras partes de la célula y se aísla de otras proteínas. A continuación se comprueba su pureza y capacidad funcional. Por último se desarrolla un medio estable para preservar la proteína. Como puedes observar, las opciones elegidas en el *upstream processing* pueden simplificar (o complicar) el *downstream processing.*

Expresión de proteínas: la primera fase del procesamiento de proteínas

Empezamos a abordar en detalle el procesamiento de proteínas describiendo la primera decisión que hay que tomar en el *upstream processing:* seleccionar la célula que se usará como fuente de proteínas. Los microorganismos, los hongos, las células vegetales y animales: todos ellos tienen cualidades singulares que les convierten en una buena elección en determinadas circunstancias.

Microorganismos

Los microorganismos son una fuente atractiva de proteínas por varias razones. En primer lugar, los procesos de fermentación de microorganismos son bien conocidos. Además, los microorganismos pueden cultivarse en grandes cantidades en poco tiempo. En aplicaciones industriales, esta capacidad de generar el producto a gran escala suele ser esencial. Los microorganismos son atractivos también porque es relativamente sencillo alterarlos genéticamente.

Se pueden usar varios métodos de tecnología del DNA recombinante para aumentar la producción de una proteína microbiana. Un método es introducir copias adicionales del gen en cuestión en la célula huésped. Otro introduce el gen relevante en el organismo cuando se ha colocado un control de la expresión bajo un promotor de la transcripción más potente (véase el Capítulo 3).

Tabla 4.3 VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EN *E. COLI*

Ventajas	Inconvenientes
La genética de *E. coli* se conoce bien	Hay que alterar las proteínas contenidas en cuerpos de inclusión intracelulares
Se pueden generar cantidades casi ilimitadas de proteínas	Las proteínas no pueden ser plegadas como requieren muchas proteínas activas en sistemas de mamíferos
La tecnología de la fermentación se conoce bien	Algunas proteínas son inactivas en humanos

La especie bacteriana más usada para producir proteínas mediante ingeniería genética es *E. coli.* Como las primeras investigaciones sobre genética bacteriana utilizaron *E. coli* como sistema modelo, ahora conocemos bien sus características genéticas.

En algunos casos, el gen ajeno (llamado **cDNA** o **DNA complementario**) del producto proteico deseado se une directamente a un gen completo o parcial de *E. coli.* El resultado es que esos *E. coli* modificados genéticamente producen la proteína deseada, pero en forma de **proteína de fusión,** lo que significa que la proteína diana está unida a una proteína bacteriana, de modo que es necesario otro proceso para separar la proteína diana del resto de la proteína de fusión. La proteína bacteriana fusionada suele ser una enzima que se unirá a su sustrato que puede unirse a una columna de purificación (véase la descripción de columnas de afinidad). La mayoría de las proteínas sintetizadas naturalmente por *E. coli* son intracelulares (dentro de la célula). En casi todos los casos, la proteína resultante se acumula en el citoplasma celular en forma de acúmulos insolubles llamados **cuerpos de inclusión,** que deben purificarse de otras proteínas celulares antes de poder ser utilizados.

Hay algunas limitaciones al uso de microorganismos en la producción de proteínas. Bacterias como *E. coli* son procariotas (organismos unicelulares primitivos). En protozoos y organismos pluricelulares se encuentran células eucariotas más avanzadas. Los procariotas son incapaces de llevar a cabo ciertos procesos, como la glucosilación. Por este motivo, ciertas proteínas sólo pueden ser producidas por células eucariotas, como señala la Tabla 4.3.

Aunque es posible realizar todo el proceso en una probeta de laboratorio, los microorganismos sometidos a ingeniería genética también pueden cultivarse en **biorreactores** a gran escala.

Los ordenadores comprueban el ambiente en los biorreactores, manteniendo las concentraciones de oxígeno

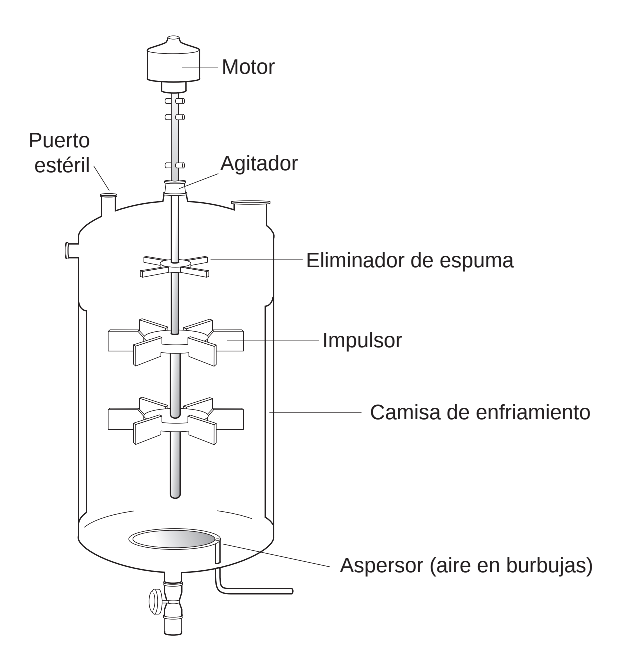


Figura 4.7 Biorreactor Los cultivos celulares de gran volumen se realizan habitualmente en un sistema autocontenido y cerrado (estéril) hasta que se recogen los productos. A través de puertos estériles, los trabajadores pueden ajustar el pH, las concentraciones de gas, y otras variables, según la información recibida de los sensores internos.

y la temperatura ideales para el cultivo celular. El cultivo celular se vigila estrechamente porque a menudo hay una fase del cultivo en la que la concentración de la proteína es máxima. Activar un gen en un organismo recombinante precisa una sincronización perfecta una vez el organismo ha terminado de sintetizar proteínas naturales importantes, necesarias para su metabolismo (como muestra la Figura 4.7).

Hongos

Los hongos son la fuente de muchas proteínas usadas en productos tan variados como alimentos animales y cerveza. Las proteínas naturales de algunos hongos son nutritivas y se usan como fuente de alimentos, como la levadura del pan y otros alimentos. Además de las proteínas naturales, muchas especies de hongos son buenas fuentes de proteínas de ingeniería genética. Al contrario que las bacterias, los hongos son eucariotas, y por este motivo pueden realizar algunas modificaciones postraduccionales y pueden plegar proteínas humanas correctamente, como ilustra la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 ALGUNAS PROTEÍNAS RECOMBINANTES DE HONGOS

Proteína	Hongos
Interferón humano	*Aspergillus niger, A. nidulans*
Lactoferrina humana	*A. oryzae, A. niger*
Quimosina bovina	*A. niger, A. nidulans*
Proteasa aspártica	*A. oryzae*
Triglicérido lipasa	*A. oryzae*

Plantas

Las células vegetales también pueden ser un lugar de expresión proteica. De hecho, las plantas son una fuente abundante de moléculas naturales, biológicamente activas, y el 85 por ciento de todos los fármacos actuales se pueden encontrar en plantas. Un ejemplo de una proteína derivada de las plantas producida a escala industrial es la **papaína,** una enzima **proteolítica** (que degrada proteínas). La papaína, o pepsina vegetal, es una proteasa usada como agente ablandador de la carne. Digiere el colágeno presente en el tejido conjuntivo y vasos sanguíneos que hace que la carne sea dura. La ventaja de la capacidad de las plantas de producir enzimas se aprovechará sin duda en el futuro para la producción de fármacos. Se puede modificar genéticamente a las plantas para que produzcan proteínas específicas y deseadas que no tienen lugar naturalmente. Este proceso favorece el crecimiento rápido y acelera la tasa de reproducción de las plantas, lo que puede ser una ventaja única. Por ejemplo, el tabaco, la primera planta modificada genéticamente, puede producir un millón de semillas de una única planta. Una vez se complete el duro trabajo de introducir el material genético necesario, un millón de nuevas «fábricas vegetales de proteínas» podrán llenar los campos, como se describe en el Capítulo 6.

También hay inconvenientes en el uso de plantas como productoras de proteínas. No todas las proteínas pueden ser expresadas en las plantas, y, como las plantas tienen paredes celulares duras, el proceso de extracción de proteínas de las células vegetales puede ser laborioso y difícil. Por último, aunque las células vegetales suelen ser capaces de glucosilar proteínas correctamente, el proceso es ligeramente diferente del que tiene lugar en las células animales. Esto podría descartar a las plantas como biofábricas para la expresión de algunas proteínas (en el Capítulo 6 se abordan las plantas transgénicas en más detalle).

Sistemas de células de mamíferos

A veces es posible cultivar células animales, haciendo que crezcan en un medio hasta que llegue el momento de recoger las proteínas. Este proceso es complicado porque los requisitos nutritivos de las células animales, incluso en una placa de Petri, son más complejos que los de las células microbianas. Las células animales también crecen relativamente despacio, y se necesitan más células para sembrar en los biorreactores. Además, como las células animales tardan en crecer, la posibilidad de que los cultivos de células animales se contaminen es mayor que en otros sistemas de cultivo. A pesar de todos estos asuntos, en muchos casos, las células animales siguen siendo la mejor opción, si no la única, para ciertos productos proteicos, en gran medida debido a los procesos patentados que han sido aprobados para la producción de estas proteínas.

Sistemas de producción en animales

Las células en cultivo no son la única opción cuando se usan células animales: en algunos casos, los productores de proteínas son animales vivos. Consideremos, por ejemplo, la técnica usada para conseguir anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales reaccionan contra una única diana, por esto son muy útiles en aplicaciones diagnósticas y terapéuticas (véase una explicación exhaustiva de su producción en el Capítulo 7). Los anticuerpos son proteínas producidas en respuesta a un **antígeno** (virus o bacteria invasores). Los anticuerpos se pueden combinar con el antígeno y neutralizarlo, protegiendo al organismo. La producción de anticuerpos es parte de la respuesta inmunitaria que ayuda a los seres vivos a resistir ante las enfermedades infecciosas. Cuando el objetivo son los anticuerpos monoclonales, se inyecta un antígeno a ratones. El ratón secreta el anticuerpo deseado, o se puede fusionar el tejido productor de anticuerpos del ratón con células cancerosas, y cuando se recoja líquido del tumor, se pueden purificar los anticuerpos monoclonales de él. Otro método de producción de proteínas en animales usa la leche o los huevos de animales transgénicos (animales que contienen genes de otros organismos). Estos productos animales contienen las proteínas del gen recombinante introducido y puede purificarse de las proteínas de la leche o los huevos. Los animales transgénicos parecen y actúan igual que sus familiares de corral normales. Una oveja transgénica como Tracy, del Capítulo 7, come heno y da leche. La gran diferencia es que su leche contiene valiosas proteínas que el animal no produce normalmente. (El Capítulo 7 explica la producción de anticuerpos monoclonales en animales transgénicos.)

Sistemas de insectos

Los sistemas de insectos son otra vía de producción de proteínas a partir de células animales. Hasta hace poco, las técnicas de expresión dependían de cultivos de células de insectos, pero se están desarrollando nuevas técnicas que usan larvas de insecto. En ambos casos, los **baculovirus** (virus que infectan insectos) se están usando como vehículos para insertar DNA que haga que las células del insecto produzcan las proteínas deseadas. Sin embargo, hay ejemplos en los que la modificación postraduccional de proteínas es ligeramente diferente en mamíferos que en insectos, de modo que esto podría impedir el uso de sistemas de expresión en insectos.

4.5 Métodos de purificación de proteínas

Una vez producida la proteína, empieza el *downstream processing*. En primer lugar, hay que recoger la proteína. Si la proteína es intracelular, se recoge toda la célula, si es extracelular, la proteína se excreta al medio de cultivo, que se recoge.

La recogida es sólo el comienzo del *downstream processing*. Después hay que purificar la proteína, lo que supone separar la proteína diana de la compleja mezcla de moléculas biológicas.

Hay que destacar que «pureza» es un término relativo. Por lo general, la FDA exige que una muestra esté compuesta en un 99,99 por ciento por la proteína deseada. Separar las proteínas de todos los demás componentes celulares no es fácil, y aislar la proteína diana del resto de proteínas de la mezcla puede ser incluso más difícil. Para entender el proceso de purificación de proteínas, examinaremos algunos pasos habitualmente seguidos en este proceso.

Preparación del extracto para su purificación

El medio, o filtrado de cultivo, recogido de un gran fermentador puede llenar una piscina, y la proteína diana generalmente representa menos del 1 por ciento de la piscina. Incluso si la proteína se expresa a mucha menor escala, encontrar la proteína esencial puede parecer como encontrar una aguja en un pajar.

Si la proteína es intracelular, la primera tarea es la **lisis celular,** o alterar la pared celular para liberar la proteína. Hay muchos métodos para hacer esto, incluyendo congelar y descongelar las células (lo que altera las membranas celulares, liberando el contenido celular), usar detergentes para disolver las paredes celulares, y poner en marcha ciertas opciones mecánicas como ultrasonidos o moler con minúsculas bolas de cristal. Debido a la fragilidad de las proteínas, liberarlas de la célula sin degradarlas totalmente es todo un reto. El proceso de disrupción libera la proteína en cuestión así como todo el contenido intracelular de la célula. La célula se descompone o se rompe mecánicamente.

Una vez rotas las células, se pueden añadir detergentes y sales a la mezcla. Los detergentes reducen la orientación hidrófoba de las proteínas, lo que facilita mucho su separación posterior según el tamaño y peso molecular. Se pueden añadir sales para disminuir las interacciones entre las moléculas y para mantener las proteínas en solución.

Estabilización de las proteínas en solución

Una vez preparada la mezcla, las proteínas deben ser estabilizadas. Recuerda que es importante mantener la bioactividad de la proteína y que las proteínas son moléculas relativamente frágiles. En consecuencia, hay que tomar precauciones para proteger a la proteína durante el proceso de purificación.

La temperatura es una amenaza para las proteínas. Si alguna vez has cocinado un huevo y has visto cómo se solidifica inmediatamente la clara, habrás sido testigo del poderoso efecto del calor sobre las proteínas. Otro ejemplo comestible es la mozzarella de una pizza: esas largas tiras de queso son pruebas reales de que las moléculas de proteína se han roto. Incluso el calor moderado de la temperatura ambiente limita la vida activa de las proteínas. Como el ob-

jetivo es una proteína activa, y como el proceso de purificación lleva su tiempo, la purificación se hace a menudo a temperaturas apenas mayores que las de congelación. La congelación directa y los ciclos de congelación-descongelación pueden destruir proteínas.

Las proteasas naturales que pueden digerir las proteínas diana en la muestra son otra amenaza. Se pueden añadir inhibidores de proteasas y antimicrobianos para impedir que se destruyan las moléculas de proteínas, pero entonces hay que eliminar estos aditivos en etapas posteriores del proceso de purificación. Cuando el objetivo es producir una proteína farmacéutica, la FDA prohíbe la adición de proteasas porque no es un componente activo y puede provocar la degradación y quizás reacciones peligrosas.

Y otra posible amenaza es la destrucción mecánica de la proteína por formación de espuma o cizallamiento de la proteína en fragmentos inútiles. De nuevo, los aditivos pueden ayudar a prevenir que la espuma y el cizallamiento destruyan la proteína, pero los aditivos deben ser eliminados posteriormente en el proceso de purificación.

Como puedes ver, es necesario llegar a un equilibrio para extraer y purificar las proteínas con éxito. Aunque es esencial purificar la proteína, es igualmente importante que la proteína mantenga su actividad biológica. Desgraciadamente, algunos potentes métodos de purificación también son lo suficientemente potentes como para dañar la proteína diana.

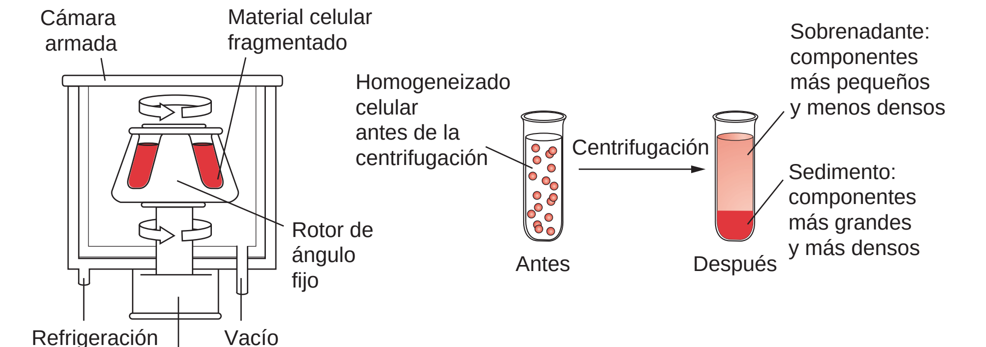
Separación de los componentes del extracto

Las similitudes entre proteínas nos permiten separarlas de otros materiales no proteicos, como lípidos (grasas), hidratos de carbono y ácidos nucleicos, que también se liberan cuando se destruye una célula. Las diferencias entre las propias proteínas se usan entonces para separar las proteínas diana de otras.

Precipitación de proteínas

Las proteínas suelen tener aminoácidos hidrófilos en su superficie que atraen e interaccionan con moléculas de agua. Esa característica se usa como base para separar proteínas de otras sustancias del extracto. Se pueden añadir sales, sulfato de amonio es lo más frecuente, a la mezcla de proteínas para **precipitar** las proteínas (provocar que se separen en el fondo de la solución). La precipitación con sulfato de amonio es a menudo el primer paso en la purificación de proteínas. Separa a las proteínas de las moléculas no proteicas y también da como resultado un precipitado de proteínas que es bastante estable.

Ciertos problemas asociados a la precipitación por sulfato de amonio hacen que éste sea una mala elección en ciertos contextos industriales. El sulfato de amonio es muy reactivo cuando contacta con acero inoxidable, por ejemplo, y muchos equipos de purificación industrial están hechos de acero inoxidable. Otros solventes usados a menudo para promover la precipitación de proteínas son el etanol, isopropanol, acetona y dietil éter. Estos sol-



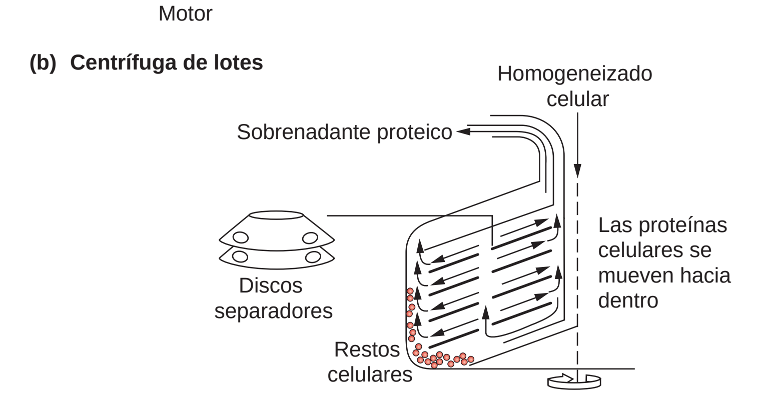


Figura 4.8 Centrifugación de ángulo fijo y de lotes Las centrífugas de ángulo fijo (a) pueden desarrollar fuerzas gravitacionales extremadamente grandes (fuerzas *g*) pero están limitadas a cantidades más pequeñas y deben limitarse a un lote cada vez. Las centrífugas de lotes (b) se crearon para permitir el flujo continuo de materiales y separación de los restos celulares de las proteínas de la célula.

ventes hacen que las proteínas precipiten eliminando el agua presente entre las moléculas de proteínas, igual que el sulfato de amonio.

Métodos de separación por filtración (según el tamaño)

Hay distintas formas de separar moléculas según su tamaño y densidad. La **centrifugación** es uno de esos métodos. La centrifugación separa las muestras girándolas a gran velocidad. Con este proceso, las proteínas pueden aislarse habitualmente en una única capa. Las centrífugas de pequeño volumen son capaces de procesar sólo unos pocos litros cada vez. Los grandes reactores pueden producir cientos o miles de litros del extracto que debe procesarse (véase la Figura 4.8). La centrifugación a escala industrial se logra habitualmente mediante centrífugas de flujo continuo que permiten el procesamiento continuo del extracto procedente del biorreactor. Esto acelera el proceso de separación, comparado con la centrifugación de pequeños volúmenes.

También se pueden usar filtros de distintos tipos y tamaños para separar proteínas. A veces se utiliza una serie de técnicas de filtración consecutivas, separando primero toda la materia celular y después las grandes moléculas proteicas de partículas menores. En la **filtración por membrana,** se usan finas membranas de nylon o de otro material sintético con poros extraordinariamente pequeños para eliminar todos los restos celulares de la solución. La **microfiltración** elimina los precipitados y las bacterias. La **ultrafiltración** usa filtros que pueden capturar moléculas como las proteínas y los ácidos nucleicos. Algunos procesos de ultrafiltración pueden separar incluso proteínas grandes de proteínas más pequeñas (véanse algunos de estos dispositivos en www.amicon.com, en inglés). Uno de los principales inconvenientes de los sistemas de filtración por membrana es su tendencia a obstruirse fácilmente. En el lado positivo, estos sistemas de filtración son más rápidos que la centrifugación.

La **diafiltración** y la **diálisis** son métodos de filtración basados en el concepto químico de equilibrio, la migración de sustancias disueltas desde áreas de mayor concentración a zonas de menor concentración. Como muestra la Figura 4.9, la diálisis depende de la capacidad de algunas moléculas de atravesar membranas semipermeables mientras que otras se detienen o enlentecen por su tamaño. Este paso de la purificación es necesario a menudo para eliminar las sales, los solventes y otros aditivos usados en etapas anteriores del proceso. A continuación se sustituyen las sales con agentes tampón que ayudan a estabilizar las proteínas durante el resto del proceso de purificación. La diafiltración añade un componente de filtro a la diálisis.

Cromatografía

Los pasos iniciales en todos los procesos de purificación liberan la proteína de la célula, eliminan los contaminantes y partículas indeseados y concentran las proteínas. Los métodos de **cromatografía** nos permiten clasificar las proteínas según su tamaño o según si tienden a adherirse a otras sustancias o a disolverse en ellas. En la cromatografía, unos tubos de cristal alargados se llenan con resina y una solución salina tamponada. Se añade el extracto de proteínas y fluye a través de la columna. Según la resina utilizada, la proteína se adhiere a las bolas de resina o bien atraviesa la columna, mientras que las bolas funcionan como un sistema de filtración.

La **cromatografía por exclusión de tamaño (SEC)** utiliza bolas de gel como sistema de filtración. Las grandes moléculas proteicas viajan rápidamente alrededor de las bolas de gel mientras que otras moléculas, más pequeñas, pasan más despacio porque pueden atravesar minúsculos agujeros de las bolas de gel, como muestra la Figura 4.10. Existen geles con distintos tamaños de poro, y el gel necesario para una filtración correcta depende de los pesos moleculares de los contaminantes que hay que separar del extracto. Este método sólo puede hacer una separación preliminar, y puede plantear problemas en un contexto industrial porque precisa columnas muy altas.

La **cromatografía por intercambio iónico** (IonX), un método de purificación y concentración de proteínas extraordinariamente potente, se basa en la carga electrostática (adhesión estática) para unir las proteínas a las

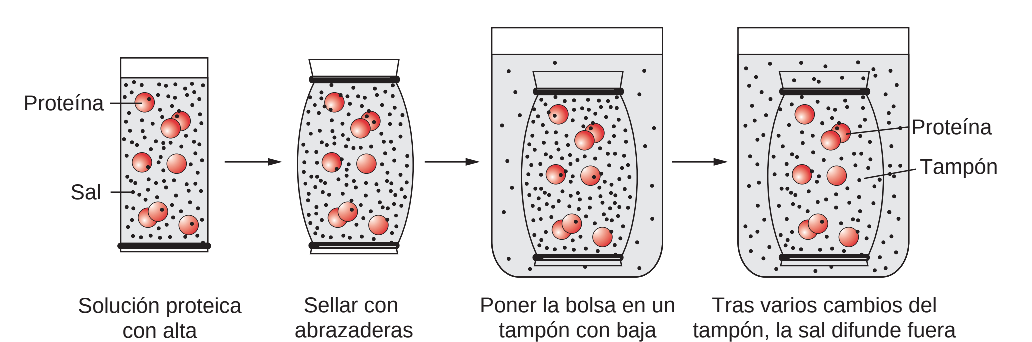


Figura 4.9 Diálisis Se puede usar la diálisis para eliminar la sal (puntos grandes del dibujo) y sustituirla por un tampón más apropiado para la estabilidad de la proteína, mediante el proceso de difusión.

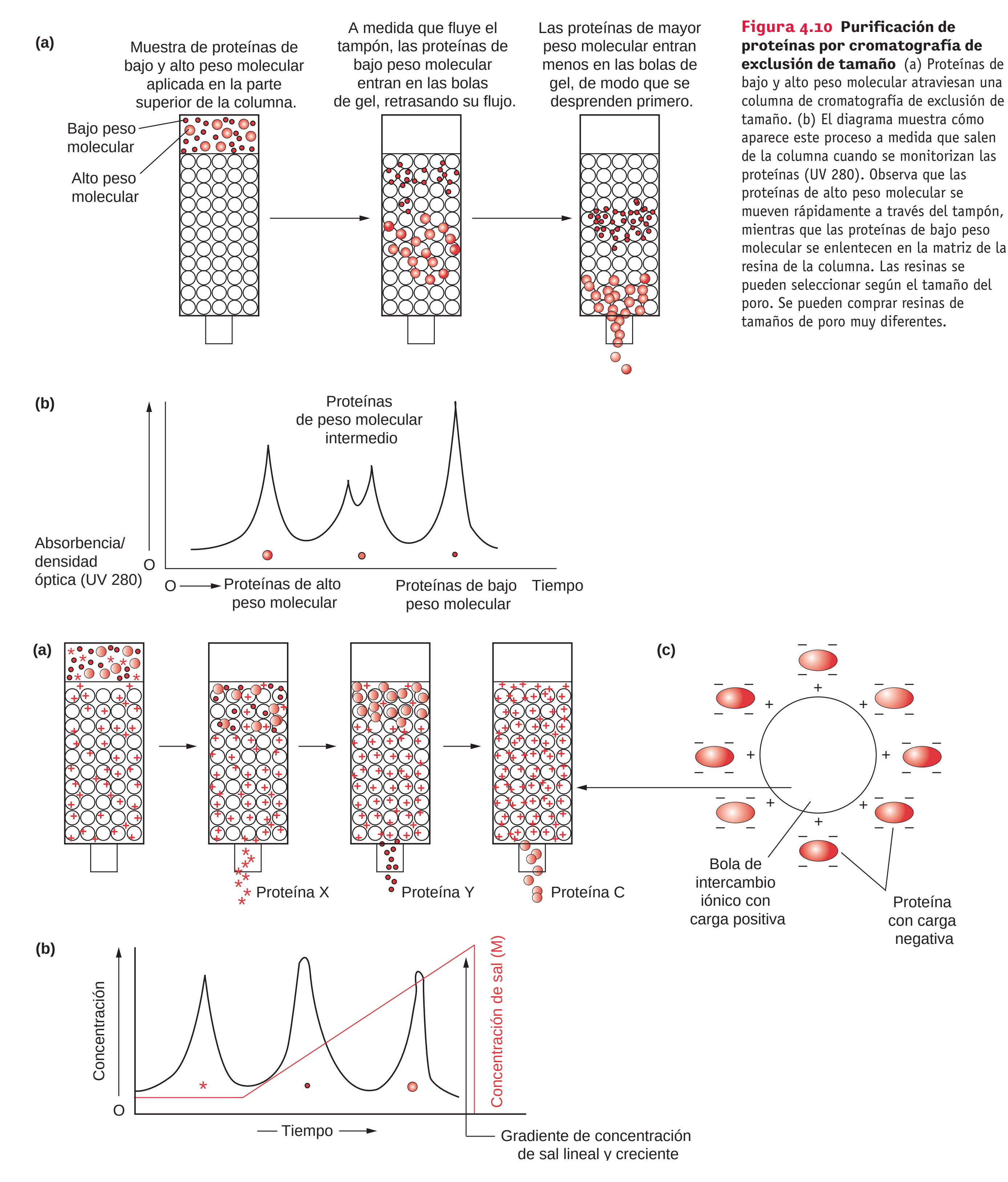


Figura 4.10 Purificación de proteínas por cromatografía de exclusión de tamaño (a) Proteínas de bajo y alto peso molecular atraviesan una columna de cromatografía de exclusión de tamaño. (b) El diagrama muestra cómo aparece este proceso a medida que salen de la columna cuando se monitorizan las proteínas (UV 280). Observa que las proteínas de alto peso molecular se mueven rápidamente a través del tampón, mientras que las proteínas de bajo peso molecular se enlentecen en la matriz de la resina de la columna. Las resinas se pueden seleccionar según el tamaño del poro. Se pueden comprar resinas de tamaños de poro muy diferentes.

Figura 4.11 Cromatografía de intercambio iónico (a) Los aminoácidos cargados se unen a las bolas de resina iónicas. Al aumentar la fuerza iónica del tampón se desplazan las proteínas (según la fuerza de su unión) una vez que se han unido a la resina de la columna. (b) La proteína X se libera a la menor concentración del gradiente de sal que desplaza; la proteína Y tiene mayor fuerza de unión y es la segunda en liberarse; la proteína Z tiene la mayor fuerza de unión y precisa una alta concentración de sal para desplazarla de las bolas de intercambio iónico de la columna. (c) La resina de intercambio aniónico es positiva; las resinas de intercambio catiónico tienen una carga negativa.

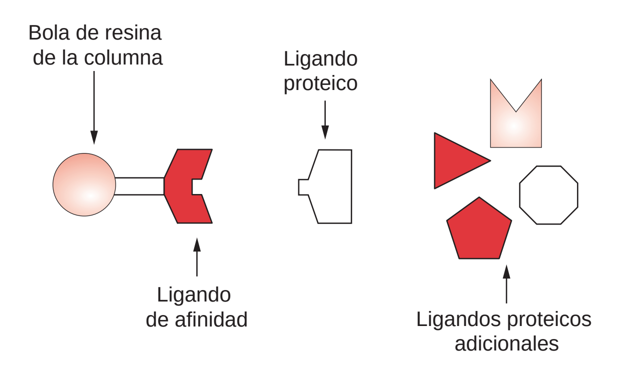


Figura 4.12 Cromatografía por afinidad Los ligandos de afinidad están diseñados para unirse específicamente a componentes químicos tridimensionales y únicos de la proteína que se está purificando. Los ligandos proteicos no unidos atraviesan la columna. Al aumentar la fuerza iónica se puede desplazar la proteína unida (tras la unión preferencial) y regenerar la columna de afinidad. La proteína desplazada (pura) puede recogerse y concentrarse.

bolas de gen de la columna. Mientras que las proteínas se adhieren a la resina, otros contaminantes atraviesan la columna y salen de ella, como muestra la Figura 4.11. A continuación se extraen las proteínas (se liberan del gen) cambiando la carga electrostática: esto se hace enjuagando la columna con soluciones salinas de concentraciones crecientes. A continuación se libera la proteína de su adsorción y se recoge.

La **cromatografía por afinidad** se basa en la capacidad de la mayoría de las proteínas de unirse específica y reversiblemente a compuestos con una forma específica llamados **ligandos.** Los ligandos son pequeñas moléculas que se unen a una molécula grande concreta. Puedes imaginar esta unión como la de una cerradura con su llave (véase la Figura 4.12). Una vez las proteínas se han unido a las bolas de resina, se usa una solución tampón para deshacerse de las moléculas no unidas. Por último, se emplean soluciones tampón especiales para provocar una desorción (romper la unión a los ligandos) de las proteínas retenidas. Las proteínas de fusión, como se mencionó anteriormente, pueden usarse en la cromatografía por afinidad porque el sustrato (ligando) de la proteína bacteriana puede ser parte de la columna de afinidad, atrayendo la proteína fusionada (enzima bacteriana) a la columna. La cromatografía por afinidad suele utilizarse en las fases finales del proceso de purificación.

Como hemos visto, los aminoácidos son atraídos o bien repelidos por las moléculas de agua. En la **cromatografía por interacción hidrófoba (HIC),** las proteínas se separan según su repulsión al agua. Las bolas de la columna de este método están cubiertas de moléculas hidrófobas, y los aminoácidos hidrófobos de una proteína son atraídos a las sustancias químicas similares de las bolas, como muestra la Figura 4.13.

El **enfoque isoeléctrico** se usa a menudo en el control de calidad del proceso de purificación para identificar dos proteínas similares que son difíciles de separar por otros medios. Cada proteína tiene un número específico de aminoácidos cargados en su superficie en lugares concretos. Por esta combinación única de grupos cargados, cada proteína tiene una firma eléctrica única, conocida como su **punto isoeléctrico (IEP),** donde las cargas de la proteína se igualan al pH de la solución. Este punto isoeléctrico se puede usar para separar proteínas cuyas demás características sean similares.

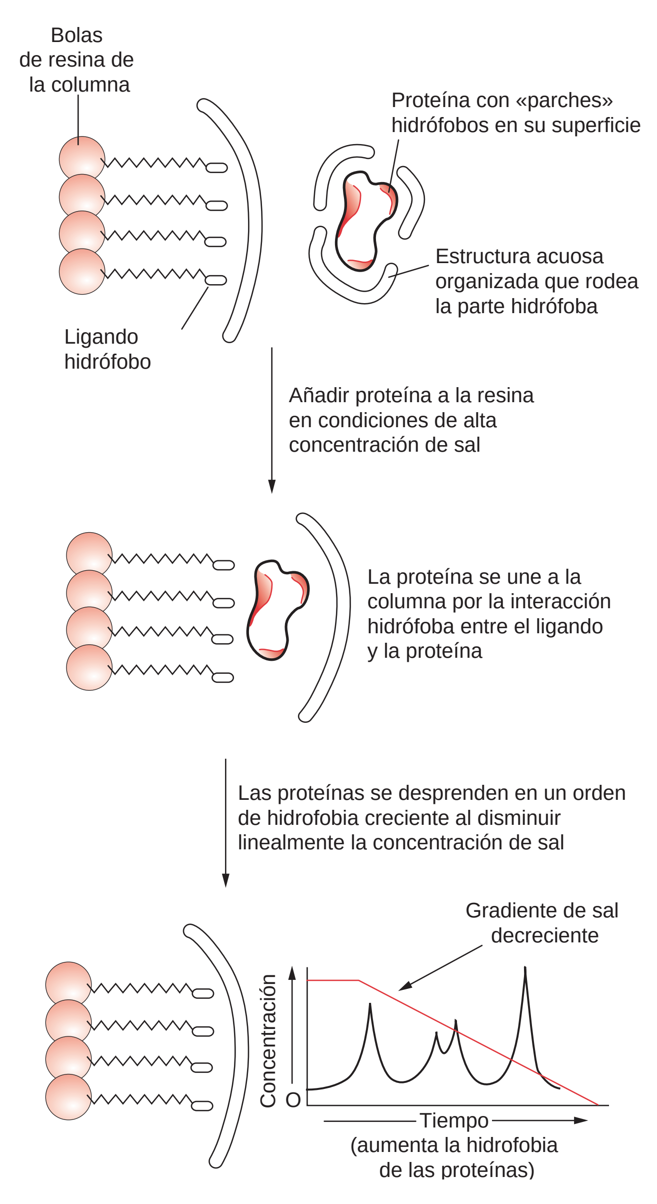


Figura 4.13 Cromatografía por interacción hidrófoba Aumentar la concentración no polar del tampón puede provocar que las porciones hidrófobas de las proteínas se combinen con una resina hidrófoba de la columna de intercambio iónico. Reducir aún más la concentración iónica desplaza la proteína de la resina de la columna y reemplaza su unión a un solvente no polar. Las fracciones se pueden recoger y la concentración de proteínas se puede determinar según su detección por el análisis espectrofotométrico a 280 nm.

La **electroforesis bidimensional,** que separa proteínas basándose en su carga eléctrica y tamaño, es básicamente la combinación de dos métodos. En esta técnica, los investigadores introducen una solución de proteínas celulares en una tira de polímero especialmente preparada. Cuando la tira se expone a una corriente eléctrica, cada proteína de la mezcla se deposita en una capa según su carga. A continuación, la tira se alinea con un gel y se expone otra vez a la corriente eléctrica. Cuando las proteínas migran a través del gel, se separan según su peso molecular.

Métodos analíticos

La **cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)** supone una vuelta de tuerca a los métodos cromatográficos previamente descritos, que dependen todos de la gravedad o de bombas a muy baja presión para mover el extracto a través de las columnas. Estos métodos de baja velocidad pueden necesitar varias horas para procesar una sola muestra. Por el contrario, la HPLC utiliza mayor presión para obligar al extracto a atravesar la columna en menos tiempo. La HPLC tiene sus limitaciones: se separan menos proteínas, de modo que la técnica es más útil en contextos analíticos que en producción en masa.

La **espectrometría de masas** es un método muy sensible usado para identificar oligoelementos. De hecho, se usa frecuentemente después de la HPLC. Todos los espectrómetros de masa hacen tres cosas: suspender las moléculas de la muestra en una fase de gas cargado, separar las moléculas según sus cocientes masa/carga, y detectar los iones separados. Este proceso puede analizar una muestra tan pequeña como un picogramo (10^{-9} gramos, o mil millonésima parte de un gramo), como ilustra la Figura 4.14. Una huella definitiva indica la identidad y el tamaño de la mayoría de los fragmentos proteicos. Una importante aplicación de este proceso es la secuenciación de proteínas. Una proteína grande puede ser descompuesta en fragmentos (péptidos) y analizada.

4.6 Verificación

En cada paso del proceso de purificación, es importante verificar que la proteína en cuestión, la proteína diana, no se ha perdido, y que los intentos de concentración han tenido éxito. La **SDS-PAGE** (electroforesis en gel de poliacrilamida) suele utilizarse para hacer estas com-

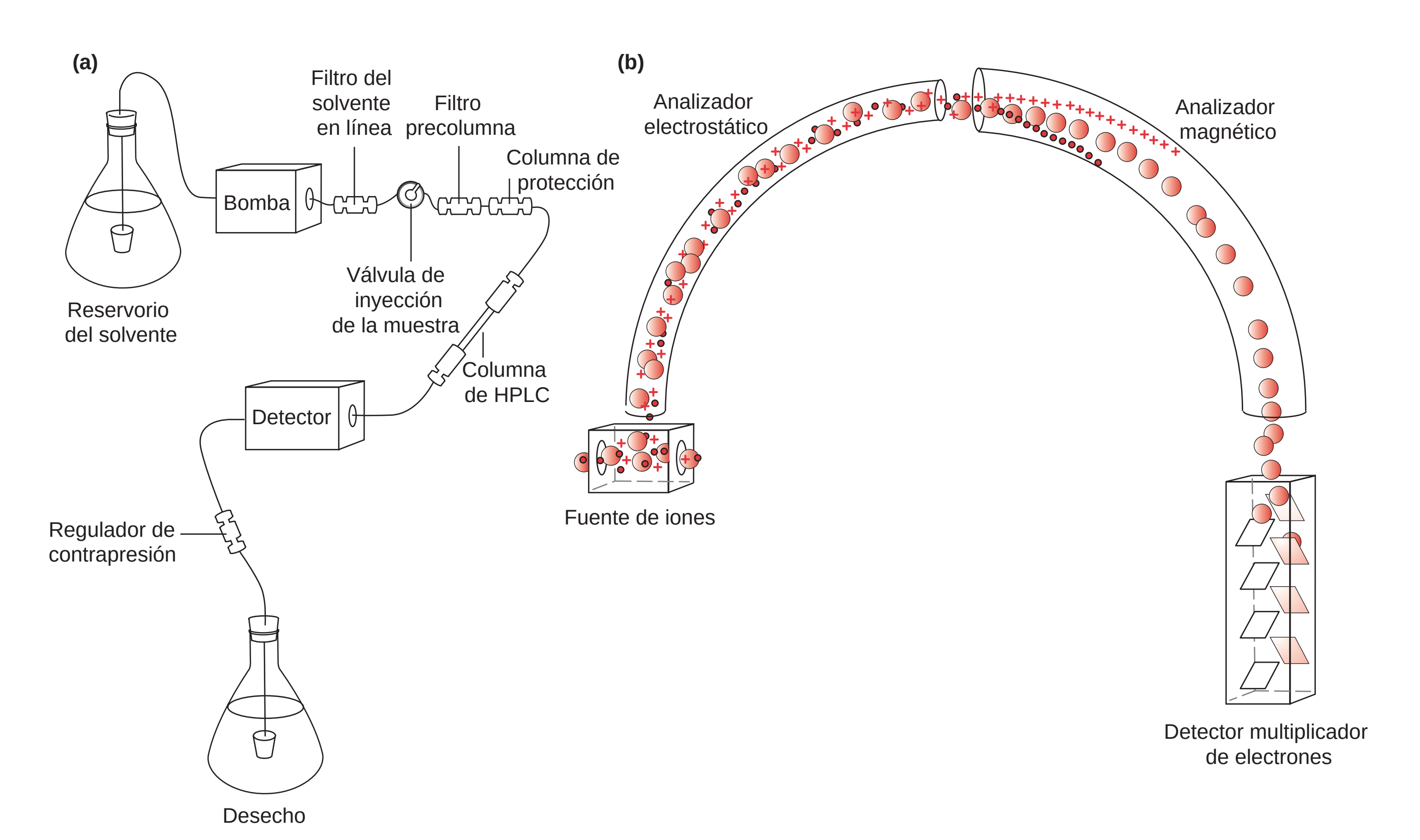


Figura 4.14 Cromatografía líquida de alto rendimiento y espectrometría de masas La cromatografía líquida de alto rendimiento suele asociarse a espectrometría de masas para analizar proteínas. (a) HPLC usa bolas de resina no compresibles bajo presiones muy altas para separar proteínas que suelen tener un tamaño similar. (b) La espectrometría de masas sigue a esta separación inicial para detectar diferencias sutiles en proteínas ionizadas y aceleradas que serán analizadas (por distancia o tiempo) a medida que atraviesen un tubo de vacío.

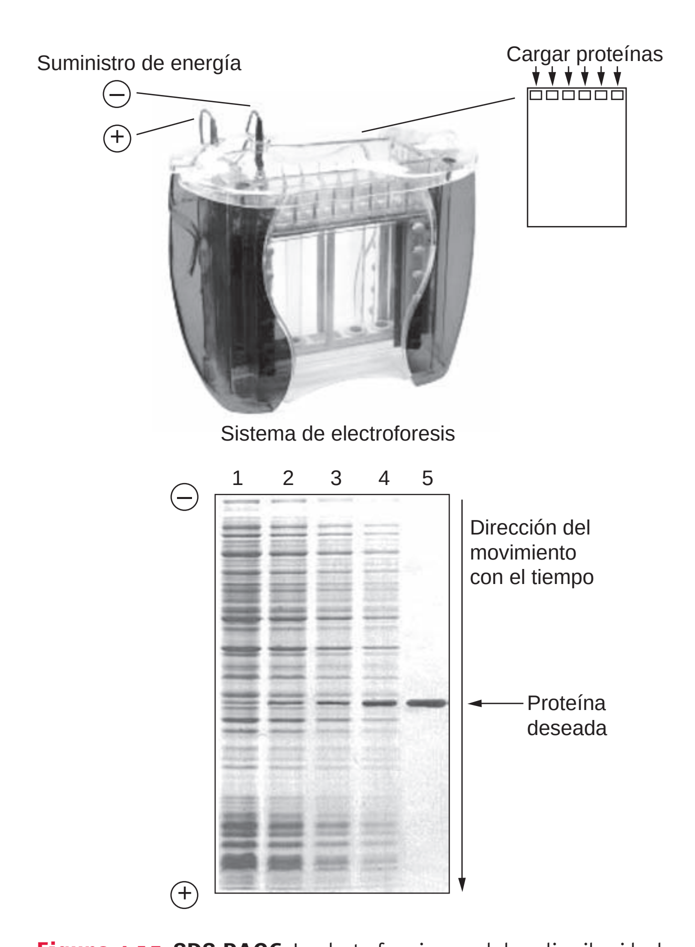


Figura 4.15 SDS-PAGE La electroforesis en gel de poliacrilamida de aquellas proteínas con cargas uniformes (producida mediante calentamiento en dodecil sulfato sódico) puede separarlas según el tamaño, basándose en su migración en un campo eléctrico vertical. Este procedimiento sigue habitualmente a cada paso principal de la purificación para verificar que la banda de proteína deseada se está concentrando cada vez más (y no se ha perdido en la separación). Observa que la proteína de 65 kilodalton tiene la máxima concentración en el paso final (carril 2) de este procedimiento (carril 1) cuando las proteínas de tamaño conocido se usan como comparación. Las proteínas más pequeñas llegarán primero al polo +.

probaciones. En este método, un detergente, el dodecilsulfato sódico (SDS), se añade a una muestra de mezcla de proteínas, y se calienta la mezcla. Las cargas del sulfato se distribuyen equitativamente en la proteína desnaturalizada (calentada), haciendo que su separación dependa del tamaño (número de cargas) de la proteína. Una vez realizado este tratamiento, la muestra proteica se carga en una matriz de gel especial (PAGE), donde forma una única banda en un lugar específico, según su tamaño y masa molecular, como se puede ver en la Figura 4.15.

Si se añade una tinción que se une a proteínas, como la **tinción azul de Coomassie,** aparece una banda claramente coloreada, y se puede comparar un marcador de tamaño conocido con la banda teñida. Cuando la muestra y el marcador conocido son equivalentes, tenemos la prueba de que la proteína de interés se está concentrando realmente. Como este proceso se realiza en cada paso del proceso de purificación, la banda coloreada debería ser cada vez más intensa, demostrando que la proteína no se ha perdido durante el proceso de purificación.

Un método específico para la detección de proteínas separadas por SDS-PAGE es el *Western blotting*. De forma parecida a Southern blotting (véase el Capítulo 3), parte de la proteína se transfiere del gel a una membrana de nitrocelulosa y se detecta con un anticuerpo específico que reconoce esa proteína por su estructura distintiva. Se puede usar una enzima unida al anticuerpo para convertirlo en un sustrato fluorescente, y se puede obtener un registro permanente de la detección. Para este procedimiento, se aplica una corriente eléctrica al gel de modo que las proteínas separadas atraviesan el gel y llegan a la membrana siguiendo el mismo patrón de separación que en la SDS-PAGE. Todos los lugares de la membrana que no contengan proteína transferida del gel pueden entonces ser «bloqueados» de un modo inespecífico de modo que el anticuerpo (suero) no se unirá a ellos de forma inespecífica. Para detectar el antígeno transferido a la membrana, se añade un anticuerpo primario (suero) en la dilución apropiada y se incuba con la membrana. Si hay anticuerpos presentes que se dirijan contra uno o más de los antígenos transferidos, esos anticuerpos se unirán a las proteínas mientras que otros anticuerpos se eliminarán al final de la incubación. Para detectar los anticuerpos que se han unido, se añaden anticuerpos antiinmunoglobulina acoplados a un grupo indicador, como la enzima fosfatasa alcalina. Por último, una vez lavado el exceso de anticuerpo secundario, se añade un sustrato que precipita al reaccionar con el conjugado, lo que resulta en una banda visible allí donde el anticuerpo primario se unió a la proteína (véase la Figura 4.15). Si quieres ver una interpretación de un Western blot, entra en la URL http://biology.arizona.edu/immunology/activities/western_blot/west2.html donde encontrarás un excelente tutorial (en inglés) del Departamento de Inmunología (Arizona State).

La detección con anticuerpos de una proteína específica también se puede realizar con un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA). El ELISA más usado necesita dos anticuerpos: uno para capturar la proteína específica y otro unido a una enzima para producir una reacción en color (véase la Figura 4.12). El primer anticuerpo contra la proteína específica se sitúa en una placa ELISA de múltiples pocillos, se añade la proteína, y tras una serie de pasos de lavado y bloqueo, se añade el segundo anticuerpo (unido a una enzima). La adición del sustrato permite que tenga lugar una reacción en color si el anticuerpo se ha unido. Las placas de ELISA están diseñadas para capturar muchas proteínas importantes investigadas actualmente. Para ver una animación y tutorial de una prueba con placa de ELISA del Arizona State, entra en la URL (en inglés) http://www.biology.arizona.edu/immunology/activities/elisa/technique.html.

4.7 Conservación de las proteínas

Una vez aislada y recogida la proteína diana, debe guardarse de modo que su actividad se conserve hasta que pueda utilizarse. Una forma de conservar proteínas es la **liofilización,** o secado por congelación. En este proceso, la proteína, que habitualmente es un producto líquido, se congela en primer lugar. A continuación se usa el vacío para acelerar la evaporación de agua del líquido. En la liofilización, los cristales de hielo se subliman a vapor de agua directamente, sin pasar por el estado líquido. Los contenedores se sellan una vez eliminada el agua, dejando las proteínas secas. Se ha demostrado que la liofilización mantiene la estructura proteica, y por este motivo es el método habitualmente elegido para conservar las proteínas biotecnológicas. Muchas proteínas liofilizadas se pueden conservar a temperatura ambiente durante mucho tiempo.

4.8 Aumentar la escala en la purificación de proteínas

Los protocolos de purificación de proteínas suelen estar diseñados en un laboratorio, a pequeña escala. Estas técnicas de purificación, y este nivel de productividad, son viables sólo cuando se necesitan pequeñas cantidades del producto. La demanda de anticuerpos monoclonales, por ejemplo, está en el rango de gramos cada año. Un único biorreactor de laboratorio puede producir habitualmente las cantidades adecuadas. Sin embargo, otras proteínas se necesitan en mucha mayor cantidad, lo que significa que los métodos de producción deben ser aumentados en escala.

Este aumento a escala no es siempre fácil de realizar. Los métodos de laboratorio que pueden funcionar a pequeña escala quizás no siempre se pueden adaptar a la producción a gran escala. Además, los cambios del proceso de purificación pueden invalidar estudios clínicos previos a escala de laboratorio. Por ejemplo, cuando la FDA aprueba una proteína de bioingeniería, también aprueba el proceso necesario para producirla. Para cambiar el proceso, puede ser necesario obtener de nuevo la aprobación de la FDA. Por este motivo, los ingenieros del bioproceso participan en los primeros estadios de la purificación y trabajan para asegurar que después será posible aumentar la escala del proceso.

4.9 Métodos de análisis postpurificación

Durante la investigación, suele ser útil examinar cuidadosamente la proteína purificada. El objetivo puede ser conocer mejor la estructura molecular de una proteína concreta o modificar la estructura para cambiar la función de la proteína. Para conseguir esos fines se utilizan los siguientes métodos.

Secuenciación de proteínas

Recuerda de la sección sobre las estructuras proteicas que cada proteína tiene una secuencia específica de aminoácidos, conocida como secuencia primaria. Para conocer totalmente una proteína, es importante determinar esta secuencia primaria. Los secuenciadores automáticos de proteínas permiten conseguir este objetivo. La secuenciación automática de proteínas ha cambiado recientemente desde el primer método de degradación de Edmond a la espectrometría de masas actual (véase la Figura 4.14). En vez de digerir cada aminoácido desde el extremo, de uno en uno (un proceso muy largo), en la espectrometría de masas, las masas de los péptidos se identifican por su firma única (tiempos de retención). Al convertir a los péptidos en iones y someterles a espectrometría de masas, es posible identificar muchas proteínas en cuestión de minutos.

PyR

P ¿Puedes elegir el mejor esquema de purificación? En el Capítulo 11 se describe un ejemplo de una proteína purificada con un gran potencial de beneficio para las personas. La proteína es hemoglobina procedente de sangre de vacas. La hemoglobina purificada se combina con el oxígeno y lo lleva a los tejidos corporales sin entrar dentro de células. Esta «sangre artificial» funciona como un sustituto de la sangre completa y no parece tener ninguna de las propiedades de rechazo/estimulación de la sangre completa de vaca transfundida. Como supones, hay muchos problemas asociados con la extracción de hemoglobina: ¿cómo puede reducirse una gran cantidad de sangre a la proteína hemoglobina sin dañarla? ¿Cómo puede separarse la hemoglobina de todas las demás proteínas de la sangre de vaca? ¿Cómo se puede utilizar el hecho de que la hemoglobina contenga hierro, mientras que otras proteínas sanguíneas no, para desarrollar un método de extracción exclusivo para esta proteína? ¿Qué se puede hacer para verificar que la proteína no se ha perdido en cada uno de los pasos de la purificación?

R Enumera las técnicas explicadas de tal modo que esta proteína intracelular pueda purificarse de las otras proteínas de peso molecular similar presentes en las células sanguíneas. Tienes que verificar tus decisiones, explicando por qué elegiste cada técnica de esa secuencia. Hay más de una secuencia posible, pero si entras en la página web de Biopure Corporation (www.biopure.com en inglés), la empresa biotecnológica que ha logrado esta purificación, podrás saber más acerca de sus propiedades para mejorar los pasos concretos de tu secuencia elegida.

Cristalografía por rayos X

La **cristalografía por rayos X** se usa para determinar las complejas estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas. El método requiere cristales puros de proteínas que han sido deshidratadas cuidadosamente a partir de soluciones. Bombardeada con rayos X, una proteína pura crea un patrón de sombras específico según su configuración (véase el Capítulo 2). Los análisis por ordenador de estos patrones permiten generar diagramas «de lazo», que no sólo describen la estructura de las proteínas, sino que también posibilitan la planificación de posibles modificaciones de la molécula proteica para mejorar su función. La cristalografía de proteínas suele ser un requisito para la aprobación de la FDA porque verifica que el proceso conduce al producto aprobado.

4.10 Proteómica

Muchas enfermedades son el resultado de fallos en la expresión de proteínas, pero no todas esas enfermedades pueden ser entendidas simplemente en términos de mutación genética. Como las proteínas pasan por modificaciones postraduccionales, el puzzle puede ser mucho más complejo. Una nueva disciplina científica, la **proteómica,** se dedica a conocer la compleja relación entre enfermedad y expresión de proteínas. En la proteómica, se comparan **proteomas** (el complemento de PROTEínas de un genOMA) en estados de salud y enfermedad. Las variaciones de la expresión proteica se correlacionan entonces con el inicio o la progresión de una enfermedad determinada. El objetivo de la investigación en proteómica es el descubrimiento de marcadores proteicos que puedan usarse en nuevos métodos diagnósticos y en el desarrollo de fármacos dirigidos al tratamiento de enfermedades. Por ejemplo, esta investigación ha conducido a prometedores avances en el cáncer de pulmón, la enfermedad de las vacas locas y el tratamiento de lesiones nerviosas.

La proteómica aplica varias de las técnicas descritas anteriormente: utiliza electroforesis bidimensional para

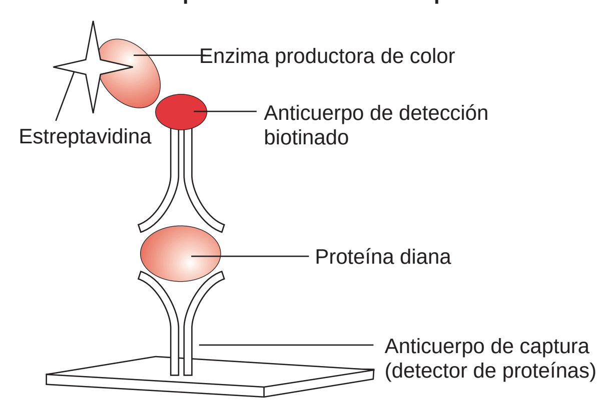
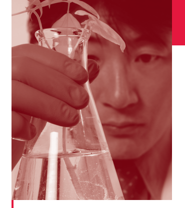


Figura 4.16 Micromatrices de proteínas Se están perfeccionando las micromatrices de proteínas que se unirán exclusivamente a una única proteína. Cuando la proteína se une, se liberará una señal fluorescente. La capacidad para detectar la presencia de proteínas únicas (proteómica) permitirá tomar decisiones adecuadas respecto al diagnóstico y tratamiento que se debe realizar.



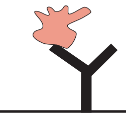
PERFIL PROFESIONAL

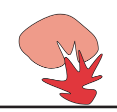
Empleos en la producción de proteínas

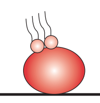
Ingeniero de bioprocesamiento: es el título más frecuente en la producción, para un científico con doctorado y un título universitario en bioingeniería, así como con un conocimiento exhaustivo de los procesos y secuencias utilizados para producir y purificar productos en biotecnología.

Ayudante de producción (MA): es un puesto de entrada, que habitualmente requiere un diploma o título de ayudante en biotecnología, biología, microbiología, bioquímica o bioproducción. Las empresas suelen pedir al menos dos años de experiencia en un área relacionada, como el trabajo de MA en plantas de bioproducción con biorreactores o fermentadores grandes y pequeños. Algunos se dedican a producir dispositivos médicos o medios para la investigación y desarrollo de productos (habitualmente, proteínas). Algunos fermentadores se usan para generar productos alimenticios o enzimas para procesos industriales. Las demandas del trabajo varían según el tipo de producción que se lleve a cabo. Los MA suelen trabajar en ambientes limpios. Pesan y miden las sustancias químicas y materias primas empleadas en el proceso. En los empleos de llenado aséptico, los MA disponen y operan equipos que llenan y empaquetan productos purificados. La purificación de productos para el llenado (de contenedores) es un requisito habitual y precisa conocer el equipo de purificación y cómo solucionar posibles problemas del mismo. Los MA deben realizar registros precisos y detallados y conocer bien las regulaciones gubernamentales que se aplican a sus actividades de producción (véase el Capítulo 12).

Técnicos de producción: generalmente son ascendidos desde el puesto de MA una vez que adquieren experiencia y demuestran aptitud. Los sueldos son más altos que los del MA. Este trabajo suele requerir un título universitario en ciencias (además de experiencia, habitualmente como MA). Esta promoción profesional en la misma empresa puede ser resultado de un MA que vuelve a estudiar para obtener el título universitario; las empresas valoran este tipo de educación y a menudo facilitan el horario laboral o incluso financian la educación.







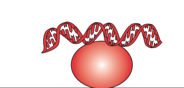


Figura 4.17 Las micromatrices de proteínas pueden detectar algo más que proteínas La capacidad de las micromatrices de proteínas ha aumentado. Recientemente, se han aplicado micromatrices de proteínas funcionales al descubrimiento de interacciones proteicas (es decir, interacciones proteína-proteína, proteína-lípido, proteína-DNA, y proteína-fármaco), aumentando nuestro conocimiento de la importancia de las interacciones proteicas para el funcionamiento normal de la célula. La unión de anticuerpos o de otras proteínas a la matriz permite su detección cuando ocurre la unión.

separar proteínas; la espectrometría de masas puede usarse para verificar la identidad de la proteína, y a continuación se caracteriza la proteína con la secuenciación de aminoácidos. Parte de esta laboriosa tarea podría ayudarse de la automatización en el futuro. Las **micromatrices de proteínas** (*microarrays*) son un conjunto de proteínas inmovilizadas en una superficie (habitualmente un portaobjetos de cristal) que ha sido recubierta con un reactivo que indicará si hay unión cambiando de color (véase la Figura 4.16). La capacidad de estas matrices ha aumentado, pero no tanto como las matrices de DNA, debido a la dificultad para producir estas matrices. Una única matriz de DNA puede vigilar la expresión de todo un genoma. Recientemente se han aplicado micromatrices de proteínas funcionales en el descubrimiento de interacciones proteicas (es decir, interacciones proteína-proteína, proteína-lípido, proteína-DNA y proteína-fármaco; véase la Figura 4.17).

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. ¿Qué nos puede enseñar la base de datos pública de proteínas?
2. En qué se diferencia la tecnología de la evolución molecular dirigida de las mutaciones que ocurren naturalmente?
3. ¿Cómo se ha beneficiado la investigación en la proteómica de los resultados de la *Protein Structure Initiative?*
4. ¿Por qué se buscan proteínas principalmente mediante productos de cDNA?
5. Si los organismos producen proteínas por sí mismos, ¿por qué debería permitirse a las empresas patentar proteínas?
6. Si purificas una pequeña proteína de una columna SEC, ¿qué fracciones desearías recoger?
7. Las proteínas unidas fuertemente a una columna de cromatografía por intercambio iónico, ¿serán las primeras o las últimas en desprenderse de la columna?
8. ¿Es la cromatografía por afinidad más o menos selectiva en la separación de proteínas que la cromatografía por intercambio iónico?
9. Enumera los métodos de separación de proteínas usados principalmente en métodos analíticos (en vez de en métodos de producción).
10. Si llevaras a cabo un análisis SDSPAGE después de cada paso en una secuencia de purificación de proteínas, y descubrieras que el último paso produce la ausencia de una banda en el lugar esperado, ¿qué significaría?

Bibliografía y lecturas complementarias

Burden, D., and Whitney, D. (1995). *Biotechnology: Proteins to PCR.* Boston: Birkhauser.

Huh, Won Ki, Falvo J.V., Gerke, L.C., et al. (2003). Global Analysis of Protein Localization in Budding Yeast. *Nature,* 425(6959): 686–691. (Primer resumen exhaustivo de la actividad proteica en organismos superiores)

Microarray Technology Empowers Proteomics. (2001, December). *Genomics and Proteomics,* pp. 44–46.

Walsh, G., and Headon, D. (1994). *Protein Biotechnology.* New York: Wiley.

Zhang, Z., Gildersleeve, J., Yang, Y-Y., et al. (2004). A New Strategy for the Synthesis of Glycoproteins. *Science,* 303(5656): 371–373. (Bacterias sometidas a ingeniería genética fabrican mioglobina glucosilada).

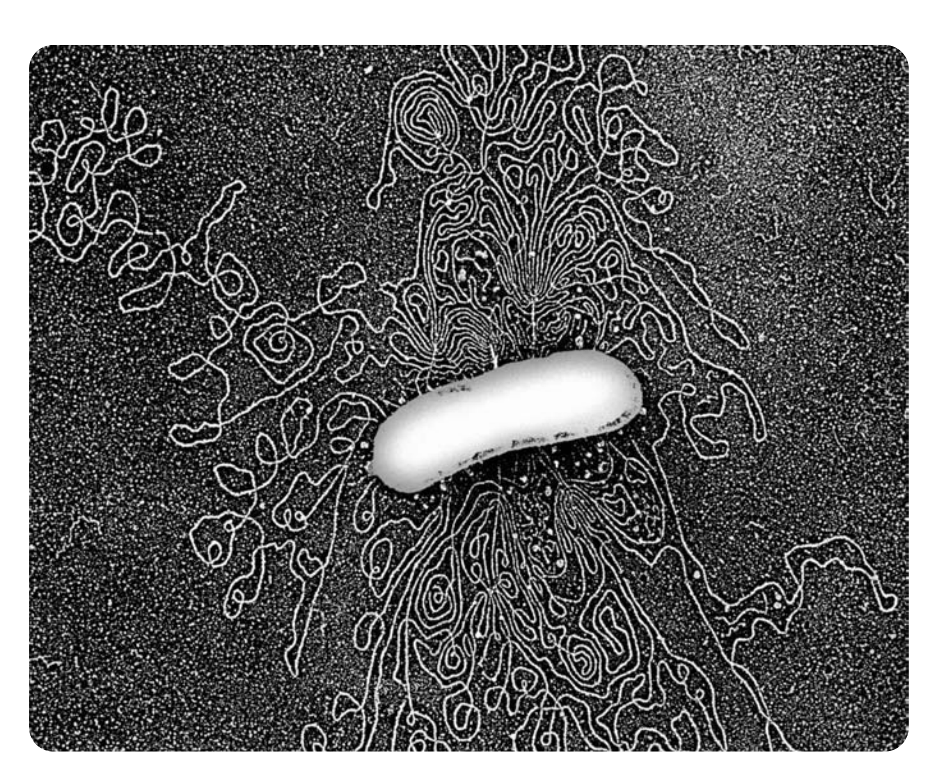
En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo 5

Biotecnología microbiana

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Citar ejemplos de cómo la estructura de las células procariotas difieren de la de las células eucariotas.
- Describir los rasgos básicos de las bacterias que hacen que éstas sirvan de organismos modelo y herramientas para su uso en biotecnología.
- Citar ejemplos de cómo se puede utilizar la levadura en biotecnología.
- Definir fermentación y tratar las diferencias entre la fermentación del alcohol y la del ácido láctico. Citar ejemplos de alimentos y bebidas típicos producidos tras un proceso de fermentación.
- Enumerar ejemplos de proteínas importantes desde un punto de vista médico producidas por las bacterias por medio de la tecnología de DNA recombinante.
- Describir el importante papel que desempeñan los microorganismos en el desarrollo y la fabricación de numerosas vacunas, y citar ejemplos de los diferentes tipos de vacunas.
- Argumentar por qué el estudio de los genomas microbianos puede ser útil para los científicos.
- Definir la genómica medioambiental.
- Definir bioterrorismo, identificar microorganismos que puedan ser utilizados como armas biológicas, y discutir las estrategias para detectar y combatir las armas biológicas.



Los microbios, como el *E. coli* que vemos en el centro de esta imagen, se utilizan en biotecnología desde hace mucho tiempo. La pared celular y la membrana plasmática de esta célula han sido seccionadas para mostrar el cromosoma bacteriano.

Justo cuando los restauradores italianos de obras de arte veían que no iban a poder salvar una de las mayores colecciones de frescos medievales de los siglos XIV y XV (pinturas hechas sobre escayola) que decoraban un cementerio en Pisa cerca de su torre inclinada, una bacteria de suelo orgánico llamada *Pseudomonas stutzeri* vino al rescate. Los restauradores estaban intentando retirar de los frescos el pegamento que había sido usado para repararlos tras los daños producidos como consecuencia de la Segunda Guerra Mundial. Pero lo único que hacían los reactivos químicos tradicionales era dañar aún más las pinturas. Al saber que *P. stutzeri* podía degradar el nitrógeno, las resinas de los plásticos y los contaminantes como el tetracloroetileno, los científicos cultivaron una cepa de estos microbios en un laboratorio y la utilizaron en los frescos. Entre 6 y 12 horas más tarde, la bacteria había limpiado aproximadamente un 80 por ciento del pegamento y los residuos sobrantes fueron retirados cuidadosamente más tarde. El próximo proyecto en el que se van a utilizar estos **microorganismos** es la eliminación de la corteza negra de unos monumentos de caliza y mármol en Grecia.

Los microorganismos, también llamados **microbios,** son diminutos organismos demasiado pequeños como para ser vistos a simple vista, por lo que debemos servirnos de un microscopio para poder observarlos. Aunque los microorganismos más abundantes son las bacterias, dentro de los microbios también encontramos los virus, los hongos como la levadura, las algas y los organismos unicelulares llamados protozoos. Casi todos estos microbios han desempeñado papeles de relevancia en biotecnología.

Las bacterias llevan en la Tierra unos 3.500 millones de años y son mucho más numerosas que los humanos. Se calcula que los microbios representan alrededor del 50 por ciento de la materia viva de nuestro planeta. Solamente se ha identificado, cultivado y estudiado en laboratorio algo menos del 1 por ciento de todas las bacterias y, ni que decir tiene que estamos literalmente rodeados de ellas. Viven en nuestra piel, en nuestra boca y en nuestros intestinos, están también en el aire y en cada superficie que tocamos. Las bacterias también se han adaptado a la vida en los lugares más inhóspitos del planeta: los círculos polares, los desiertos, las aguas termales y hasta en lo más profundo del mar, a miles de kilómetros bajo la superficie del océano, en lugares donde la presión es muy elevada.

La abundante cantidad de bacterias y otros microbios proporciona una cantidad ingente de usos biotecnológicos posibles. Mucho antes de que se desarrollaran las técnicas para clonar los genes, el hombre ya usaba microbios en biotecnología. En este capítulo empezaremos analizando el importante papel que han desempeñado las bacterias tanto en las antiguas como en las modernas prácticas de biotecnología. Además, veremos la gran cantidad de usos que tiene la levadura.

Con frecuencia, el uso de microorganismos como «herramientas» biotecnológicas depende de su estructura celular; por ello comenzaremos revisando la estructura de las células procariotas y posteriormente consideraremos una gama de aplicaciones de la biotecnología microbiana. Finalizaremos el capítulo hablando de lo peligrosos que pueden ser los microbios cuando actúan como agentes del bioterrorismo.

5.1 La estructura de los microbios

Antes de considerar las innumerables aplicaciones de la biotecnología microbiana debes saber distinguir a los microorganismos de las células de plantas y animales. Si recuerdas el Capítulo 2, las células pueden clasificarse, en términos generales, teniendo en cuenta la presencia (eucariotas) o la ausencia (procariotas) de un núcleo que contenga el DNA de la célula. Por tanto, las células consideradas como eucariotas incluyen las células de las plantas y animales, las de hongos como la levadura, las de las algas y las de organismos unicelulares (protozoos) como la ameba, que habrás estudiado en secundaria en clase de biología. A diferencia de las células eucariotas, las procariotas carecen de la mayoría de los orgánulos limitados por membrana, como por ejemplo el núcleo. Las procariotas incluyen los **Dominios** (categorías taxonómicas que están por encima de los reinos, por ejemplo, Arquea, Bacteria y Eukaria) **Bacteria** y **Arquea,** organismos que comparten propiedades tanto eucariotas como procariotas. La estructura celular de los microorganismos es importante tanto para determinar dónde se desarrollan mejor como para conocer sus usos en biotecnología. Por ejemplo, muchos Arquea viven en condiciones extremas, en lugares salados o climas cálidos, y por ello tienen propiedades metabólicas únicas. Además, los rasgos estructurales de las bacterias en particular hacen de ellas excelentes microorganismos muy útiles para la investigación en biotecnología. Las células bacterianas (1-5 μm; 1 μm = 0,001 milímetros) son mucho más pequeñas que las células eucariotas (10-100 μm), y tienen una estructura mucho más simple. Vuelve a la Figura 2.1 para ver un diagrama de la estructura celular procariota. Las células bacterianas también muestran los siguientes rasgos estructurales:

- El DNA no está contenido en el núcleo y generalmente consiste en un cromosoma circular único que carece de las proteínas histonas.
- La bacteria puede contener DNA plasmídico.
- La bacteria carece de orgánulos limitados por membrana.
- La pared celular que rodea la membrana de la célula (plasma) posee una estructura diferente a la de la pared celular de la planta. Compuesta por un complejo polisacárido y una sustancia proteínica llamada **peptidoglucano,** la pared celular forma una barrera exterior rígida que protege a las células y determina su tamaño. En el caso de los Arquea, esta estructura no contiene peptidoglicanos.
- Algunas bacterias contienen una capa exterior de carbohidratos que forman una estructura llamada *cápsula.*

La mayor parte de las bacterias se clasifican según la **tinción de Gram,** una técnica mediante la cual se usa un colorante para teñir la pared celular de la bacteria. Las bacterias Gram-positivas adquieren un color púrpura y la estructura de sus paredes celulares es simple y rica en peptidoglicanos. Sin embargo, las bacterias Gram-negativas adquieren un color rosa y la estructura de sus paredes celulares es compleja y más pobre en peptidoglicanos. Las bacterias no forman tejidos multicelulares como las células de animales y plantas, aunque algunas de ellas pueden asociarse con otras para formar cadenas o filamentos de muchas células conectadas.

Las bacterias varían según su tamaño y forma. Las formas más comunes incluyen las células esféricas llamadas **cocos,** células con forma de bastón llamadas **bacilos,** y bacterias espirales con forma de sacacorchos (Figura 5.1). Si sigues estudiando los microbios, aprenderás que con frecuencia el nombre de las bacterias te da pistas sobre la forma de esas células. Por ejemplo, los *Staphylococci* son bacterias esféricas que viven en la superficie de tu piel. El *Bacillus anthracis* es una bacteria con forma de bastón causante del carbunco.

El cromosoma circular único que constituye el genoma de la mayoría de las bacterias es relativamente pequeño. Su media oscila entre los 2 y los 4 millones de pares de bases, nada comparado con los 200 millones de un cromosoma humano corriente. Como viste en el Capítulo 3, algunas bacterias también contienen plásmidos además de DNA cromosómico. El DNA plasmídico contiene a menudo genes de resistencia a los antibióticos y genes que codifican unas proteínas que forman unos tubos de conexión llamados *pili* (ver Figura 2.1) y que permiten a las bacterias intercambiar el DNA entre las células. El DNA plasmídico es una herramienta esencial para los biólogos moleculares porque se puede utilizar para transportar y duplicar piezas de DNA en experimentos con DNA recombinante.

Las bacterias crecen y se dividen rápidamente. En condiciones favorables para su crecimiento, muchas células bacterianas se dividen cada veinte minutos aproximadamente, sin embargo las células eucariotas crecen a menudo durante 24 horas o más antes de dividirse. Por tanto, en condiciones favorables de crecimiento en un laboratorio, una pequeña población de bacterias puede dividirse rápidamente para producir millones de células idénticas. Al ser las bacterias tan pequeñas, millones de células pueden crecer con facilidad en pequeñas placas de agar-agar o en un medio de cultivo. Cuando se crían en un cultivo en placa, cada célula bacteriana se divide generalmente para formar colonias circulares que contienen cientos de millones de células (Figura 5.2a). Para muchos usos en biotecnología las bacterias se crían o crecen en fermentadores que pueden albergar varios cientos de miles de litros de medio de cultivo (Figura 5.2b).

También es relativamente fácil crear cepas mutantes de bacterias que se pueden usar para estudios moleculares y genéticos. Los mutantes se pueden crear exponiendo la bacteria a rayos X, a luz ultravioleta y a diversas sustancias químicas que mutan el DNA (mutágenos). En realidad, existen cientos de cepas mutantes. Por estos motivos y por muchos más, las bacterias no son solamente los organismos favoritos de microbiólogos sino también organismos tipo ideales para realizar estudios de biología molecular, genética, bioquímica y biotecnología.

Las levaduras son también microbios importantes

Aunque el principal objetivo de este capítulo son las aplicaciones de las bacterias en biotecnología, hay que decir que la **levadura** también ha desempeñado un papel muy importante en esta ciencia. De hecho, los arqueólogos descubrieron unas recetas en unas tablillas del año 4.300 a. C. de la antigua Babilonia que explican cómo fabricar cerveza usando levadura, que es uno de los usos documentados más antiguos en biotecnología. Mucho más recientemente se han generado levaduras productoras de anticuerpos recombinantes humanos. La levadura es un microbio eucariota unicelular que pertenece al reino de los organismos denominados **hongos.** Existen alrededor de 1,5 millones de especies de hongos. Hasta ahora solamente se ha identificado y clasificado el 10 por ciento de ellos, es por eso que existe un potencial significativo a la hora de identificar más productos útiles provenientes de los hongos. Por ejemplo, los hongos son importantes fuentes de antibióticos y medicinas que sirven para reducir el colesterol en la sangre.

Además de poseer muchas estructuras similares a las de otras células eucariotas, como pueden ser las células de plantas y animales, la levadura contiene también numerosos orgánulos limitados por una membrana en el ci-

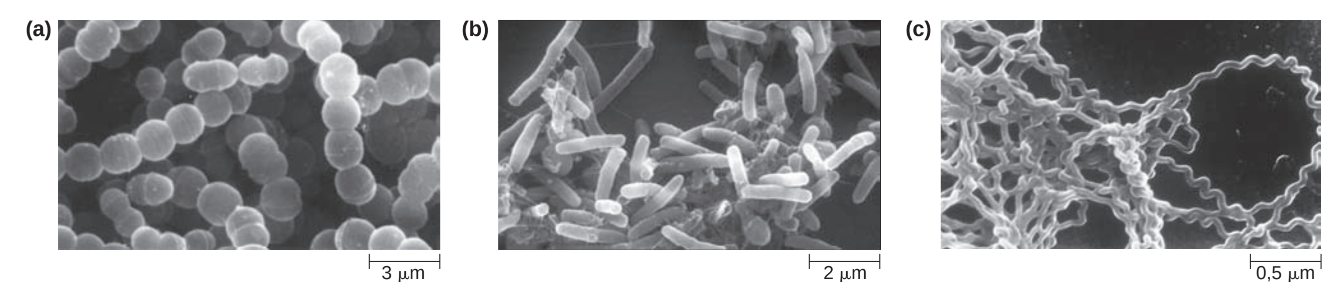
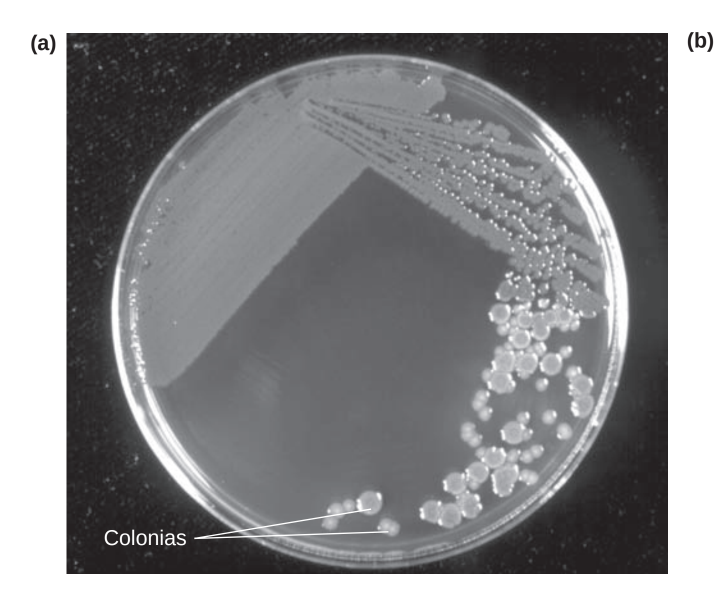


Figura 5.1 Formas de las bacterias La forma de las bacterias suele ser: esférica (a), en forma de bastón (b) y en forma de sacacorchos (c).

(a)



(b)

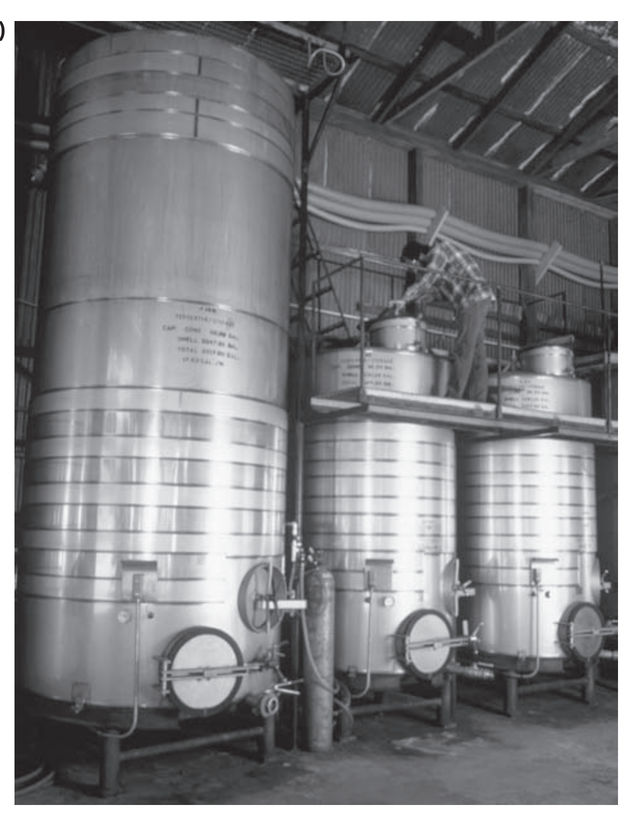


Figura 5.2 Cultivo de bacterias (a) La mayoría de las bacterias se pueden cultivar de diversas formas, en un medio acuoso o en un medio sólido, como en el caso de la placa de Petri que vemos aquí. En medio sólido muchas bacterias crecen en grupos de forma circular llamados colonias, que generalmente tienen su origen en una única célula que se divide rápidamente para producir un punto perceptible a simple vista. Una única colonia puede contener millones de células bacterianas. (b) Las bacterias también se pueden cultivar en grandes cantidades. Los fermentadores que vemos aquí contienen varios cientos de litros de bacterias criadas en un medio acuoso. Estos fermentadores funcionan como biorreactores que sirven para numerosos propósitos, como pueden ser el cultivo de bacterias para aislar proteínas recombinantes y el cultivo de levadura para producir vino.

toplasma, citoesqueleto y estructuras cromosómicas parecidas a los cromosomas humanos. Las células de la levadura poseen también genomas más extensos que la mayoría de las bacterias. También los mecanismos de expresión génica en la levadura se asemejan a los de las células humanas. Esos rasgos hacen de ella un organismo modelo único del cual se puede estudiar su estructura cromosómica, la regulación de los genes, la división celular y el control del ciclo celular.

Los diferentes tipos de levaduras varían enormemente de tamaño, pero la mayoría son más grandes que las bacterias y son de forma esférica, elíptica o cilíndrica. Muchas de ellas pueden crecer en presencia de oxígeno **(condiciones aeróbicas)** o en ausencia de éste **(condiciones anaeróbicas),** y en diversas condiciones de crecimiento nutricional. También existen muchos tipos diferentes de levaduras mutantes. El *Saccharomyces cerevisiae,* una cepa de levadura estudiada habitualmente, fue el primer organismo eucariota cuya secuencia genómica fue completada. Posee 16 cromosomas lineales que contienen alrededor de 12 millones de pares de bases de DNA y aproximadamente 6.300 genes. También se han descubierto varios genes de enfermedades humanas en la levadura, y gracias a su estudio los científicos pueden aprender mucho sobre la acción de estos genes sobre el ser humano y las enfermedades que pueden causar.

Recientemente, una cepa de levadura llamada *Pichia pastoris* ha demostrado ser un organismo particularmente útil. Es capaz de alcanzar una mayor densidad (biomasa) en un medio acuoso que la mayoría de las cepas de levadura de los laboratorios, tiene un elevado número de promotores que pueden utilizarse para producir grandes cantidades de proteínas, e igualmente en el **procesamiento a mayor escala** para producir grandes cantidades de células. En el próximo apartado tendremos en cuenta cómo los científicos utilizan los organismos como herramientas útiles para la investigación en biotecnología.

5.2 Microorganismos utilizados como herramientas

Los microorganismos, tanto en estado natural como modificados genéticamente, han servido como herramientas muy útiles de muchas y fascinantes formas.

Enzimas microbianas

Las enzimas microbianas se han utilizado en aplicaciones que van desde la producción de alimentos hasta la investigación en biología molecular. Dado que los microbios son una fuente de enzimas excelente y útil, algunas de las primeras enzimas disponibles en comercios aisladas para su uso en biología molecular fueron las polimerasas de DNA y las enzimas de restricción procedentes de las bacterias. Aisladas en un primer momento a partir de *E. coli,* las polimerasas de DNA se utilizaban en una gran cantidad de técnicas con DNA recombinante, como por ejemplo el marcaje de secuencias de DNA para investigación y el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para desarrollar el DNA.

En el Capítulo 3 ofrecimos una introducción sobre la DNA *Taq* polimerasa presentada como una enzima termoestable. La DNA *Taq* es una enzima termoestable esencial para la PCR, que fue aislada del *Thermus aquaticus,* una Arquea que vive en aguas termales. Por su habilidad para crecer y prosperar estando sometidos a un calor extremo, estos microbios reciben el nombre de **termófilos** (cuya denominación procede del griego y que significa «amantes del calor»). Se han identificado muchas enzimas termoestables similares en otros termófilos y se usan por lo general en la PCR y otras reacciones. Varias compañías tienen el permiso del Gobierno de Estados Unidos para efectuar prospecciones en los géiseres del Parque Nacional de Yellowstone con el objetivo de identificar otros microorganismos potencialmente valiosos que puedan contener enzimas nuevas y útiles. Estos proyectos, que podemos denominar de **bioprospección,** tienen lugar en todo el mundo. Recientemente una cepa de una bacteria ya conocida fue aislada de un conducto hidrotermal en el suelo al noreste del océano Pacífico. Se ha demostrado que esta cepa sobrevive a 121 ºC, y se cree que es el límite de temperatura en el cual puede existir vida.

La enzima **celulasa,** producida por *E. coli,* degrada la celulosa, un polisacárido que forma la pared celular de las plantas. La celulasa se usa por lo general para hacer que los alimentos para los animales puedan digerirse más fácilmente. ¿Alguna vez has tenido unos vaqueros lavados a la piedra? Estos suaves y desteñidos pantalones no se fabrican lavándolos literalmente con piedras, sino que el tejido se trata con un compuesto de celulasas que proceden de hongos, como es el caso del *Trichoderma reesei* y el *Aspergillus niger.* Estas celulasas degradan suavemente las fibras de celulosa del algodón que se utiliza para fabricar los pantalones, dando como resultado una tela más suave. La proteasa **subtilisina,** una variante de *Bacillus subtilis,* es un componente muy importante de muchos detergentes cuya función es degradar y eliminar las manchas de proteínas de la ropa. Algunas enzimas bacterianas se usan también para tratar alimentos, como es el caso de las enzimas que digieren los carbohidratos llamadas amilasas que se usan para degradar el almidón y hacer jarabe de maíz posteriormente.

Transformación bacteriana

Recuerda que la *transformación* (habilidad de las bacterias para apropiarse del DNA que las rodea) del Capítulo 3 supone una etapa esencial en los procesos de clonación de DNA recombinante. Cuando se clona el DNA, los plásmidos recombinantes se pueden introducir en las células bacterianas por medio de una transformación, por lo que la bacteria puede duplicar los plásmidos recombinantes. La mayoría de las bacterias no captan el DNA fácilmente a menos que sean tratadas para ser más receptivas. Las células que han sido tratadas para su transformación se llaman **células competentes.** Una técnica usada para preparar células competentes consiste en tratar las células con una solución de cloruro cálcico helada. Los átomos cargados positivamente (cationes), en el cloruro cálcico, atacan la pared bacteriana y la membrana para crear agujeros a través de los cuales el DNA puede penetrar. Estas células se congelan a temperaturas extremadamente bajas (de –80 ºC a –60 ºC) para mantener su estado competente y para que puedan usarse en un laboratorio cuando se necesiten.

Una vez que las células competentes están preparadas se pueden transformar con el DNA de una manera relativamente fácil, como se muestra en la Figura 5.3a. Generalmente, el DNA que se introduce en las bacterias se inserta en un plásmido que contiene uno o más genes de resistencia. Este plásmido vector se mezcla en un tubo con las células competentes y la mezcla se introduce en hielo durante algunos minutos. No se sabe con exactitud ni completamente cómo funciona esta transformación; lo que sí sabemos es que se han de mantener las células en frío durante un tiempo (durante el cual el DNA se mantiene en la superficie externa de la bacteria) y que el frío sirve probablemente para crear huecos en la estructura lipídica de la membrana celular para que entre el DNA. Se cree que los cationes del cloruro cálcico desempeñan un papel importante a la hora de neutralizar las cargas negativas de los fosfatos en la membrana celular y el DNA, que de otra forma podrían hacer que unas células repelieran a otras. Seguidamente, las células se calientan poco tiempo (un minuto más o menos) a temperaturas entre 37 y 42º C. Durante este breve «golpe» de calor el DNA entra en las células bacterianas. El golpe de calor induce una caída térmica similar al efecto que produce abrir una puerta en un frío día de invierno. El calor se introduce rápidamente en la célula arrastrando el DNA consigo.

Tras permitir que estas células crezcan en un medio líquido pueden ser cubiertas por un medio con agar-agar que contenga antibióticos. Solamente aquellas células que fueron transformadas por el DNA plasmídico que contenía los genes de resistencia crecerán para producir colonias. Recuerda que en el Capítulo 3 llamábamos a esta técnica *selección antibiótica.* El DNA plasmídico es duplicado (clonado) por bacterias ya transformadas, y los genes contenidos en el plásmido son transcritos y tradu-

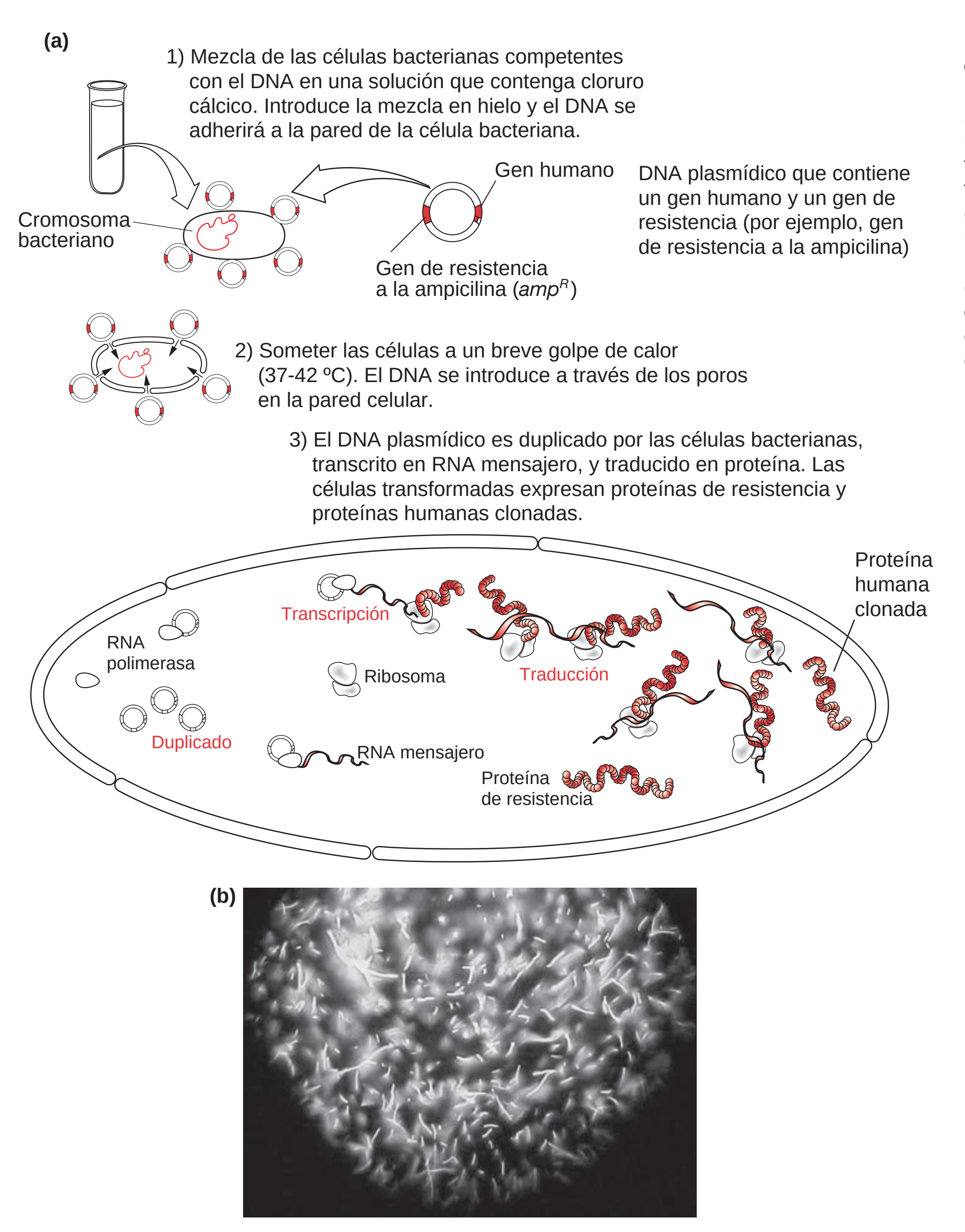


Figura 5.3 Transformación de células bacterianas (a) En un laboratorio, la mayoría de las células bacterianas pueden ser inducidas a llevar un DNA extraño por medio de un tratamiento de cloruro cálcico. (b) *E. coli* transformado con un plásmido que contiene el gen de la medusa con la proteína de fluorescencia verde (GFP). Estas células bacterianas desprenden un color verde brillante (un espectacular ejemplo de transformación) que indica que se han apropiado de los plásmidos que contenían el gen GFP y expresado el RNA mensajero del GFP y la proteína.

cidos en proteínas. De este modo, las células bacterianas transformadas expresan ahora proteínas recombinantes.

Llamamos a este proceso transformación porque se puede cambiar la apariencia o las propiedades de la célula bacteriana al introducir en ella genes extraños. Éstos son células transformadas porque han sido alterados genéticamente para que tengan nuevas propiedades codificadas por el DNA, capacitándolos para producir sustancias que normalmente no podrían producir. Por ejemplo, *E. coli* puede ser transformada con un gen llamado proteína de fluorescencia verde (GFP) procedente de la medusa (Figura 5.3b). Prestaremos mayor atención a las aplicaciones prácticas de la GFP en el Capítulo 10. Como se ha apuntado en la Sección 5.3, las células bacterianas se han transformado para expresar un amplio número de genes valiosos que incluyen muchos genes humanos.

Electroporación

La **electroporación** es otra técnica habitual utilizada para transformar las células (Figura 5.4). En esta aproximación, usamos un instrumento llamado electroporador que produce un breve choque eléctrico que introduce el DNA en las células bacterianas sin matar a la mayoría de células. La electroporación ofrece ciertas ventajas en comparación con el tratamiento con cloruro cálcico en la transformación. La electroporación es rápida, requiere menos células y también puede utilizarse para introducir DNA en muchos otros tipos de células, incluyendo las células de levadura, hongos, animales y plantas. Además, la electroporación es un proceso mucho más eficaz que la transformación con cloruro cálcico. Muchas más células recibirán el DNA extraño gracias a la electroporación

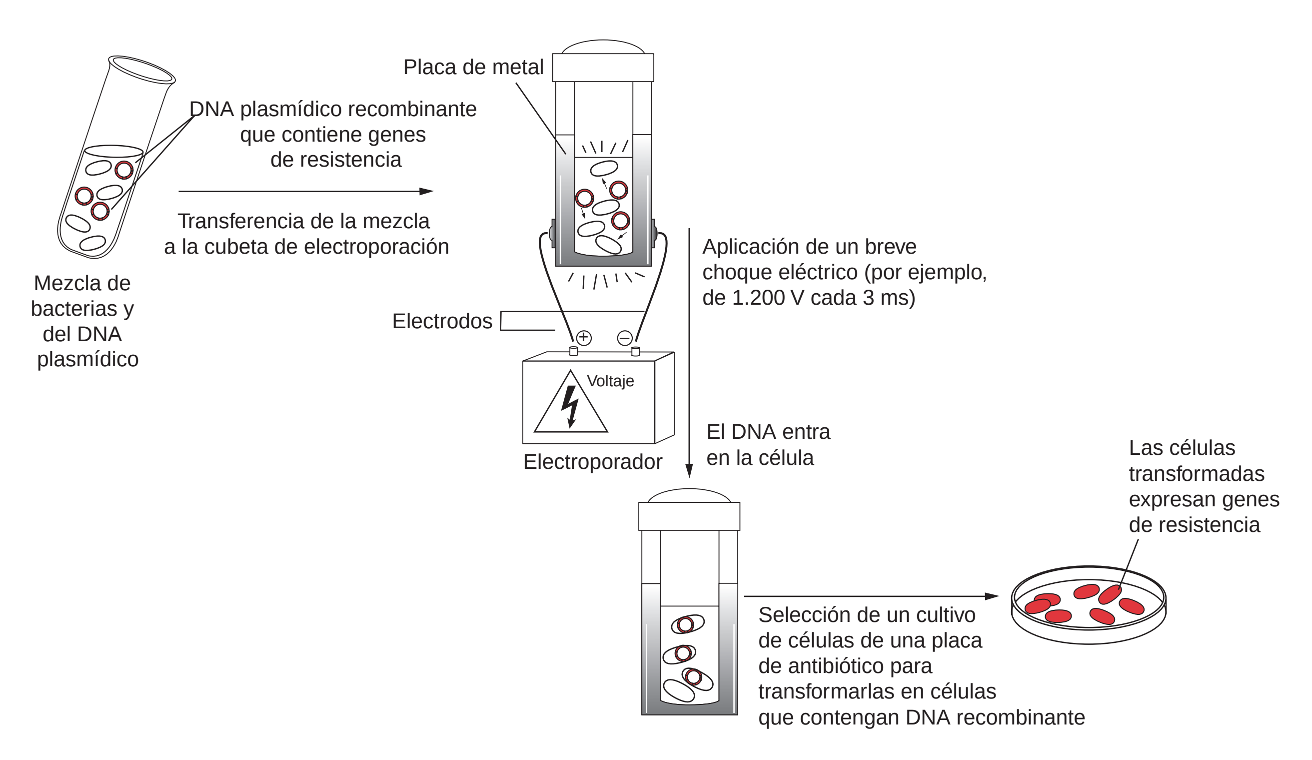


Figura 5.4 La electroporación es una técnica rápida y eficaz para transformar bacterias Durante la electroporación se coloca una mezcla de bacterias y DNA plasmídico en una cubeta. Gracias a la aplicación de un breve choque eléctrico a la cubeta el DNA se introduce rápidamente en la célula. Las células que contienen DNA recombinante pueden ser seleccionadas entonces para ser cultivadas en agar-agar que contenga un antibiótico u otro componente de selección.

contrariamente a lo que ocurrirá con el tratamiento con cloruro cálcico. Debido a esto, se usa mucho menos DNA para transformar las células (basta con un picogramo de DNA). Sin importar cómo se transforman las células bacterianas, una vez que el DNA que nos interesa se introduce en la bacteria se pueden llevar a cabo diversas técnicas útiles.

Técnicas de clonación y expresión

Una de las razones por la cual se transforman las células bacterianas es para duplicar el DNA recombinante de interés. Además, para duplicar el DNA extraño las bacterias transformadas son también útiles porque con frecuencia se utilizan para producir proteínas en masa con diversos objetivos. Una forma de expresar y aislar una proteína recombinante de interés es haciendo una proteína de fusión.

Creación de proteínas de fusión bacteriana para sintetizar y aislar proteínas recombinantes

Existen muchas técnicas para usar las bacterias como herramientas para sintetizar y aislar proteínas recombinantes. Un enfoque muy frecuente consiste en crear una **proteína de fusión.** Existen muchas formas de producir proteínas de fusión, pero lo fundamental de esta técnica es utilizar métodos de recombinación de DNA para insertar un gen de la proteína de interés en un plásmido que contenga un gen de una proteína conocida que sirva como marcador (Figura 5.5). La proteína marcada permite entonces el aislamiento y la purificación de la proteína recombinante como proteína de fusión. Los vectores plasmídicos necesarios para crear proteínas de fusión se llaman habitualmente **vectores de expresión** porque hacen posible que las células bacterianas produzcan o expresen grandes cantidades de proteínas. Por lo general, los vectores de expresión incluyen aquellos que sintetizan proteínas como la proteína de unión a maltosa (como la que vemos en la Figura 5.5), la glutatión S-transferasa, la luciferasa, la proteína fluorescente verde y la beta-galactosidasa.

Los vectores de expresión contienen secuencias promotoras procariotas, por lo que una vez que el vector de expresión recombinante que contiene el gen de interés se introduce en la bacteria mediante una transformación, la bacteria sintetiza entonces el RNA mensajero y la proteína de este plásmido. Las cadenas de RNA mensajero transcritas son moléculas híbridas que contienen secuencias codificadoras para los genes de interés y la proteína marcada. Por consiguiente, se sintetiza una proteína de fusión a partir de este RNA mensajero, el cual está formado por la proteína de interés unida (fusionada) a la proteína marcada, en este caso, la proteína de unión a maltosa (Figura 5.5, etapa 2).

Para aislar la proteína de fusión y separarla de otras proteínas, generadas por lo general por bacterias, las células son lisadas (destruidas) y homogeneizadas para crear una especie de batido de bacterias conocido como

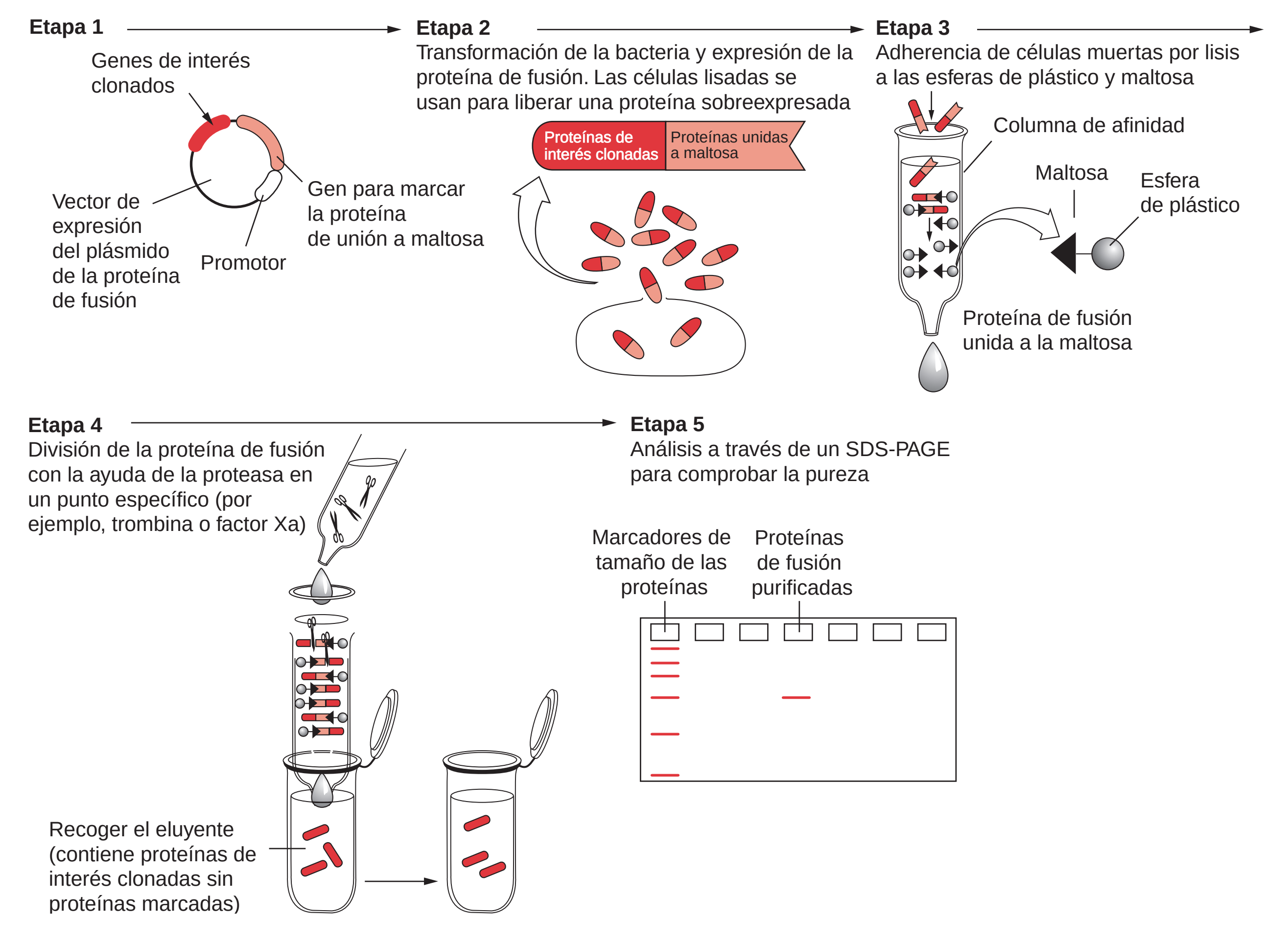


Figura 5.5 Proteínas de fusión Para crear una proteína de fusión se ha de ligar un gen de interés a un vector de expresión. Las células bacterianas se transforman gracias al DNA recombinante. Las células transformadas expresan la proteína de fusión, la cual es aislada al unirse a una columna de afinidad.

extracto. Se hace pasar entonces el extracto por un tubo llamado *columna.* Un tratamiento habitual consiste en llenar una columna de esferas de plástico cubiertas de moléculas que se unirán a la porción de proteína marcada de la proteína de fusión.

En el Capítulo 4 ya hablamos de esta técnica, conocida como cromatografía por afinidad porque las esferas de la columna tienen atracción o «afinidad» hacia la proteína marcada. Por ejemplo, en la Figura 5.5 las esferas de plástico están unidas a la maltosa, que será retenida por la proteína de unión a maltosa. Más adelante veremos cómo se pueden utilizar las esferas cubiertas de anticuerpos para aislar una proteína de fusión. Posteriormente, un tratamiento con enzimas que utiliza enzimas que rompen los enlaces peptídicos llamadas *proteasas* aísla y une la proteína de interés a la proteína marcada. Algunas técnicas utilizadas para crear proteínas de fusión incluyen pequeños péptidos marcados de sólo unos pocos aminoácidos. Por ejemplo, los marcadores poly His son solamente una pequeña serie del aminoácido histidina. Un beneficio de este planteamiento es que a diferencia de las proteínas de unión a maltosa y otras cadenas que son proteínas mayores, por lo general las pequeñas cadenas no afectan a la estructura y función de la proteína a la que están fusionadas, por lo que a menudo no han de ser eliminadas. Las técnicas de fusión de proteínas se usan para suministrar proteínas purificadas para el estudio de la estructura y función de las proteínas, y se utilizan para aislar insulina y otras proteínas recombinantes importantes desde un punto de vista médico (véase la Figura 5.9 más adelante).

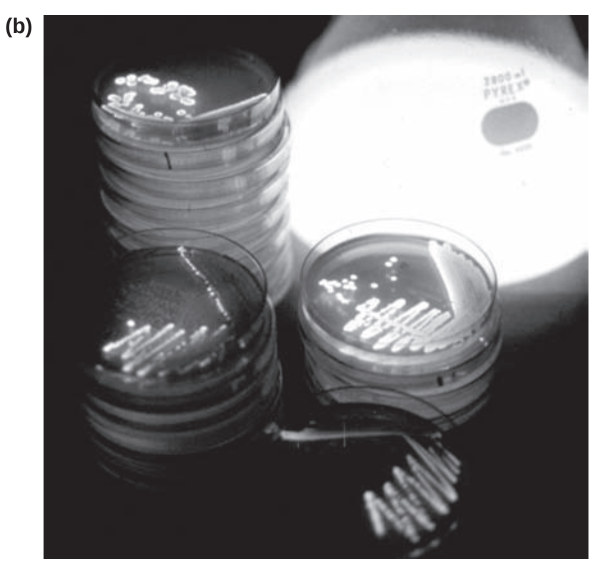
Escherichia coli y las bacterias Gram negativas con forma de bastón *Bacillus subtilis* son microbios que se utilizan con frecuencia para producir proteínas de fusión. *Bacillus subtilis* es particularmente un microbio que se beneficia de muchas aplicaciones cuando se crean proteínas de fusión para proteínas humanas porque las secretará en un medio de cultivo en el cual podrán ser recogidas y purificadas con facilidad. A diferencia de algunas bacterias, *B. subtilis* procesa a menudo las proteínas de tal forma que mantiene su estructura tridimensional y su función.

Proteínas microbianas que funcionan como informadores o reporteros

Según estimaciones recientes, las tres cuartas partes de los organismos marinos pueden desprender luz gracias a un

proceso llamado **bioluminiscencia.** Los peces marinos poseen una serie de líneas de células bioluminiscentes en el lateral de su cuerpo y las aletas que sirven para atraer a los de su misma especie para reproducirse en la oscuridad del océano. La bioluminiscencia de muchas especies marinas tiene su origen en bacterias como el *Vibrio fisheri,* que usa el organismo marino como huésped (Figura 5.6). Las bacterias como el *Vibrio* se han utilizado para detectar sustancias químicas que producen cáncer (cancerígenos), contaminantes medioambientales, y contaminantes químicos y bacterianos de las comidas. El *Vibrio fisheri,* junto con otra cepa marina bioluminiscente llamada *Vibrio harveyi,* crean luz gracias a la acción de unos genes llamados genes *lux.* Varios genes *lux* codifican las subunidades proteicas que forman una enzima llamada **luciferasa** (del latín *lux ferre* que significa «portador de luz»).





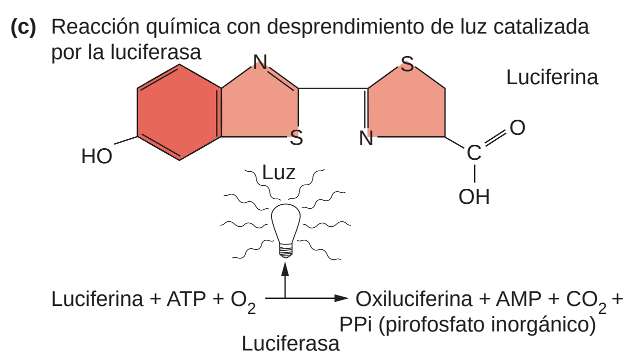


Figura 5.6 Bacterias marinas bioluminiscentes: una fuente de genes *lux* Las bacterias marinas bioluminiscentes como el *Vibrio fisheri* de la imagen (a), que brilla en los órganos que desprenden luz de un pez de aguas profundas, y la imagen (b) donde vemos un cultivo de laboratorio, generan luz. En la imagen (c) los genes *lux* codifican la enzima luciferasa, que usa el oxígeno y la energía de reserva (ATP) para convertir la luciferina en oxiluciferina. Esta reacción también genera luz. Los genes *lux* han desempeñado un importante papel como genes reporteros al permitir a los biólogos estudiar la expresión génica. Al clonar genes en plásmidos que contienen genes *lux* la expresión viene indicada por las células brillantes.

La luciferasa es la misma enzima que permite a las luciérnagas emitir luz. Los genes *lux* se han clonado y utilizado para estudiar la expresión génica de varias formas específicas. Por ejemplo, al clonar los genes *lux* en un plásmido, el plásmido *lux* puede utilizarse para producir proteínas de fusión. Los genes *lux* también pueden realizar la función de **genes informadores, reporteros o marcadores.** Si la luciferasa codificada por el plásmido *lux* es introducida en células animales o vegetales, ésta hace que las células adquieran un brillo fluorescente (Figura 5.6). De esta forma, el plásmido *lux* actúa como un «informador» que proporciona una señal visual de la expresión génica.

Los genes *lux* se están utilizando para desarrollar un bioensayo fluorescente cuyo objetivo es realizar pruebas de tuberculosis (TB). La TB es causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis,* que crece lentamente y puede vivir en el interior de un ser humano durante varios años hasta que el individuo desarrolle la TB (los síntomas de la TB se estudian en la Sección 5.4). En el bioensayo de TB los científicos introdujeron genes *lux* en un virus que infecta al *M. tuberculosis.* Posteriormente, se mezcla la saliva de un paciente que puede estar infectado por *M. tuberculosis* con el virus que contiene el *lux*. Si *M. tuberculosis* está presente en la muestra de saliva, el virus infectará a estas células bacterianas, que podrán ser detectadas por su intenso brillo. Se han utilizado algunas cepas de *E. coli,* manipuladas de forma similar, para detectar la contaminación del agua por arsénico. Los genes reporteros desempeñan un papel notable en investigación y medicina; analizaremos todos ellos en el Capítulo 10. En el apartado siguiente exploraremos diversos usos cotidianos de los microbios.

5.3 Utilización de los microbios en diversas actividades cotidianas

Los microbios son necesarios para realizar las funciones normales del cuerpo y para otros muchos procesos naturales del medio ambiente. No es nada nuevo el beneficiarse del amplio abanico de posibilidades que nos ofrecen los microbios para fabricar alimentos, desarrollar y producir nuevos medicamentos, y su uso para detectar y limpiar los desperdicios del medio ambiente. En esta sección veremos muchas de las utilidades de la biotecnología microbiana hoy en día.

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

El sistema de doble híbrido en levadura

El **sistema de doble híbrido en levadura** es hoy en día una de las técnicas de mayor actualidad en biología celular y molecular. Esta innovadora técnica de estudio de proteínas que interactúan con otras representa una excelente forma de entender la función de las proteínas. Por ejemplo, supón que identificas varias proteínas que crees que pueden interactuar y trabajar juntas en una vía metabólica para la síntesis de una hormona importante del cuerpo. El sistema de doble híbrido en levadura es una técnica excelente para determinar si esas proteínas se pueden adherir a otras e interactuar con ellas.

Como se muestra en la Figura 5.7, el gen necesario para una proteína de interés es clonado y expresado como una proteína de fusión ligada al dominio de unión al DNA (DBD) de otro gen. Por lo general, encontramos estos sitios de unión a DNA en las proteínas, como los factores de transcripción que interactúan con el DNA. Esta proteína se suele conocer con el nombre de proteína «cebo» porque se usa para buscar otras proteínas llamadas «presa» que pueden unirse a ellas. El gen de la segunda proteína de interés está unido a otro gen que contiene secuencias del dominio activador (AD) de la transcripción. Las proteínas AD, necesarias también para ligar al DNA a proteínas de unión de DNA, estimulan el dominio de unión de una proteína cebo para interactuar con los sitios de unión de DNA, como es el caso de una secuencia promotora para un gen indicador.

Este DNA modificado se introduce en las células de la levadura. El *Saccharomyces cerevisiae* es una cepa utilizada frecuentemente. Ni la proteína de fusión DBD ni la proteína de fusión AD pueden por sí solas estimular la transcripción de este gen indicador. En la Figura 5.7, el gen *lacZ,* que codifica la enzima beta-galactosidasa, se nos presenta como un gen indicador común cuya actividad se puede estimar fácilmente por medio de un sencillo test colorimétrico. Solamente una combinación de ambas proteínas (una molécula que forme un «híbrido» o complejo de las dos proteínas) estimulará la expresión del gen indicador. Gracias a que los científicos pueden crear mutaciones de ambas proteínas de interés y ver cómo estas mutaciones afectan a la capacidad de interacción de las dos proteínas, podemos aprender mucho sobre la estructura y la función de esas proteínas. El sistema de doble híbrido en levadura es un buen ejemplo de cómo la biotecnología microbiana puede emplearse para realizar investigaciones.

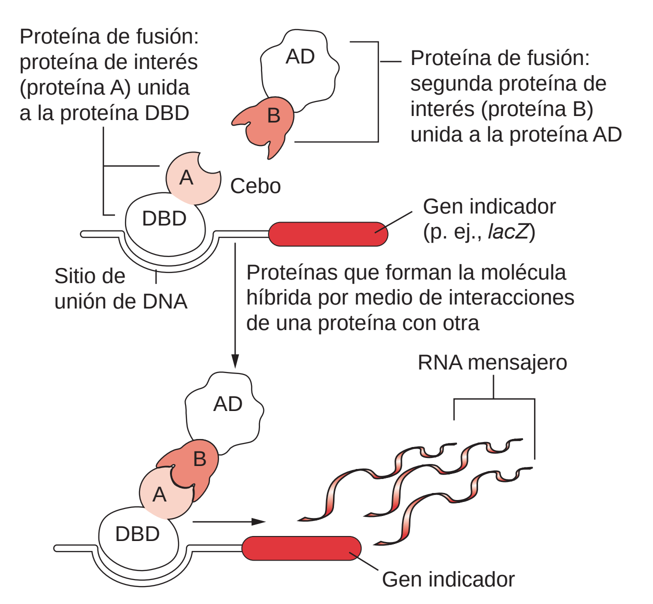


Figura 5.7 El sistema de doble híbrido en levadura ayuda a estudiar la interacción entre proteínas Si un investigador desease saber si dos proteínas A y B pueden interactuar la una con la otra, la primera proteína podría ser expresada como una proteína de fusión unida a un dominio de unión de DNA (DBD) de otra proteína (como los factores de transcripción) y la segunda proteína podría ir ligada a una proteína del dominio activador (AD). Ninguna proteína de fusión por sí sola es capaz de unir y estimular la transcripción (producción de RNAm) del gen indicador. La proteína híbrida resultante creada a partir de las interacciones entre dos proteínas de fusión estimulará la transcripción del gen indicador, el cual podrá considerarse fácilmente como un indicador de las interacciones proteínicas entre las proteínas A y B.

Productos alimenticios

Los microbios se usan para preparar muchos tipos de alimentos que van desde el pan, el yogur, el queso y el chucrut hasta algunas bebidas como la cerveza, el vino, el champán y el licor. Cuando eras niño aprendiste probablemente la clásica canción infantil de *La señorita del arete.* En esta canción, la señorita del arete sentada en su taburete comiendo «requesón y suero de leche» puede parecer una forma absurda de hablar de biotecnología, pero el manjar del bol de la señorita del arete fue la consecuencia de la aparición de la biotecnología. El requesón y el suero se forman a partir de leche coagulada, y durante la producción del queso, la coagulación de la leche es muy importante. Para hacer queso se trata la leche de las vacas, de las cabras o de las ovejas para ayudar a que ésta coagule (*requesón*). Llamamos *suero* al líquido acuoso resultante de la formación del requesón.

Una forma de hacer queso a partir de leche coagulada consiste en tratar la leche con una solución ácida, pero los mejores quesos se hacen generalmente usando la enzima **renina.** Cuando la producción de queso no había hecho más que comenzar, la forma de obtener renina era extrayéndola del estómago de los terneros y otras especies

animales productoras de leche, como las cabras, las ovejas, los caballos e incluso las cebras y los camellos. La renina coagula la leche para producir requesón por medio de la digestión de una familia de proteínas llamada *caseína,* uno de los componentes más importantes de la leche. La caseína digerida forma una mezcla insoluble de proteínas que se amontona (coagula). Este proceso es similar al que tiene lugar cuando la leche se estropea.

En la década de 1980, gracias a las técnicas de DNA recombinante, los científicos clonaron la renina y la expresaron en células bacterianas y hongos como es el caso del *Aspergillus niger.* La renina recombinante (actualmente llamada **quimosina**) procedente de los microbios es muy utilizada por los fabricantes de queso por ser un sustituto barato que sirve para evitar extraer la renina de los terneros. En 1990 la renina fue el primer ingrediente de DNA recombinante usado en comidas que tuvo el visto bueno de la Food and Drug Administration (FDA). En algunos tipos de queso, se utilizan algunas cepas de bacterias, llamadas bacterias de ácido láctico (*Lactococcus lactis, L. acidophilus*), para realizar la coagulación. Estas bacterias degradan la caseína y usan la enzima llamada *lactasa* para eliminar los azúcares de la leche, que las bacterias emplean a menudo para llevar a cabo la **fermentación** (una característica del metabolismo bacteriano esencial para muchas de las cosas que comemos y bebemos).

Microbios fermentadores

La fermentación es un proceso microbiano importante que sirve para producir muchos productos y bebidas entre los cuales se encuentran el pan, el vino, el champán, el yogur y el queso. Los microbios fermentadores desempeñan un papel de gran importancia para la biotecnología. Una de las aplicaciones más recientes de los microorganismos (la elaboración de la cerveza y el vino) consiste en la fermentación llevada a cabo por la levadura (Figura 5.8a). Para apreciar de qué manera los microbios son necesarios para fabricar cerveza, vino y pan es necesario que sepas más sobre el proceso de fermentación.

Las células de animales y plantas, así como muchos microbios, obtienen energía de carbohidratos como la glucosa, al utilizar los electrones de estos azúcares para crear una molécula llamada **adenosina trifosfato (ATP).** La producción de ATP tiene lugar tras una serie de reacciones. La reacción principal, llamada glucólisis, convierte la glucosa en dos células llamadas *piruvato.* Durante esta conversión, los electrones son transferidos de la glucosa al electrón que transporta las moléculas, llamado *NAD*$^+$, que captura electrones para producir el NADH (Figura 5.8b). Esta molécula transporta los electrones para que se lleven a cabo reacciones subsecuentes durante el proceso que tiene como resultado la producción de ATP. El oxígeno representa una parte importante de estas reacciones para algunas bacterias y levaduras. Los microbios que usan oxígeno para producir ATP se llaman **aerobios** porque experimentan un metabolismo que depende del oxígeno (aeróbico).

Muchos microbios viven en lugares en los que el oxígeno es escaso o ausente, como es el caso de los intestinos de los animales, las aguas profundas o el suelo. Dado que estos organismos han de sobrevivir sin oxígeno han desarrollado la capacidad de derivar la energía de los azúcares en ausencia de oxígeno (condiciones anaeróbicas), esto es lo que se conoce como fermentación. Los microbios que usan la fermentación se llaman **anaerobios.**

La fermentación es parecida a la glucólisis, en la cual el NAD$^+$ se usa para capturar electrones y crear NADH y piruvato. Sin embargo, ni el NADH ni el piruvato tienen un lugar adonde ir. En un metabolismo aeróbico se requiere oxígeno para usar los electrones procedentes del NADH y el piruvato para crear ATP. Pero en condiciones anaeróbicas hay poco oxígeno o ninguno, por lo cual el NADH y el piruvato no pueden utilizarse para crear ATP. Todos los organismos deben reciclar el NADH para convertirlo en NAD$^+$. La fermentación permite a muchos

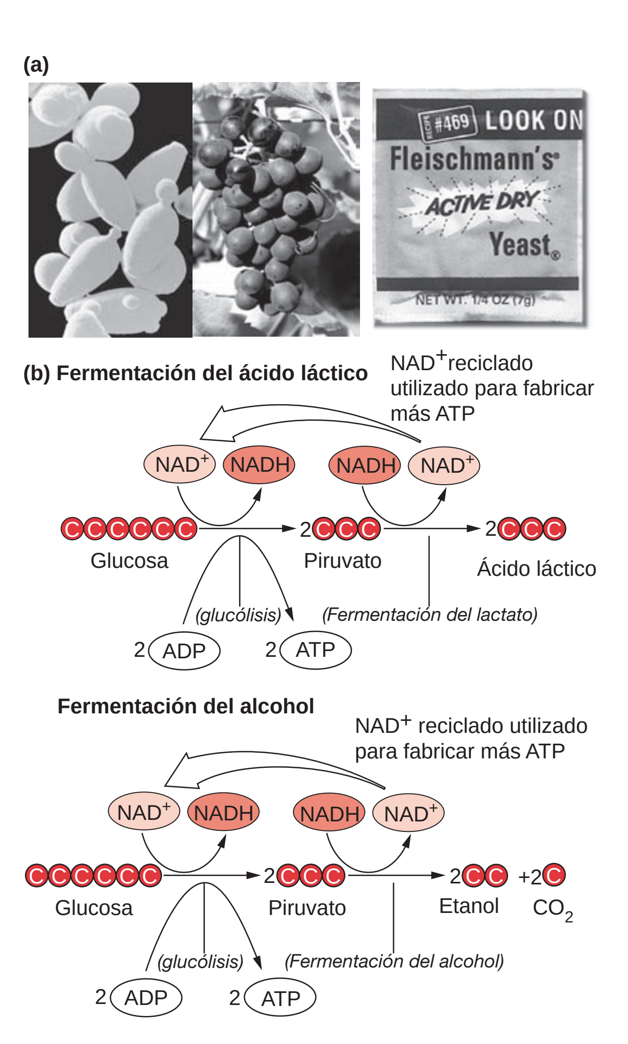


Figura 5.8 Fermentación Algunas cepas de levadura y de bacterias son capaces de producir energía a partir de azúcares (glucosa) gracias a la fermentación. (a) Algunas levaduras, como es el caso de *S. cerevisiae* (a la izquierda de la imagen) hacen que la masa del pan aumente de volumen. Otras cepas del *Saccharomyces* crecen en los viñedos y son importantes para la fabricación del vino (imagen central). (b) Las bacterias anaeróbicas que experimentan la fermentación del ácido láctico (lactato) lo expulsan posteriormente como un producto de desecho. Las bacterias que fermentan el alcohol desechan etanol y dióxido de carbono (CO_2). Ambos procesos son importantes a la hora de tratar muchos alimentos y bebidas.

anaerobios realizar esto en ausencia de oxígeno, pero hay otros que son capaces de llevar a cabo tanto la fermentación como la respiración aeróbica, dependiendo de la presencia o la ausencia de oxígeno. En ausencia de oxígeno los anaerobios han evolucionado para producir reacciones de fermentación. Esto es una forma útil de resolver el problema que plantea el reciclar el NADH para obtener NAD^+. Los microbios fermentadores utilizan el piruvato como una molécula capaz de aceptar electrones para extraer electrones del NADH que permitan regenerar el NAD^+ (Figura 5.8b). Los dos tipos de fermentación más habituales son la **fermentación del ácido láctico** y la **fermentación del alcohol (etanol).**

Durante la fermentación del ácido láctico, los electrones procedentes del NADH se utilizan para convertir el piruvato en ácido láctico (llamado también lactato) y durante la fermentación del alcohol, los electrones procedentes del NADH convierten el piruvato en etanol. El NAD^+ es regenerado cuando los electrones son extraídos del NADH y son transferidos al piruvato para fabricar lactato o etanol al final de la fermentación. Durante la fermentación del alcohol también se desecha dióxido de carbono. Existen muchas cepas de bacterias fermentadoras y levaduras. Los diferentes tipos de fermentación sirven para hacer chucrut a partir de la col y para producir a la vez productos como el ácido acético del vinagre, el ácido cítrico de los zumos de fruta, y la acetona y el metanol, dos productos químicos que a menudo se utilizan en los laboratorios para limpiar vidrio. Además, la ventaja de estos productos microbianos es que su fabricación resulta más eficaz y barata si se hace de esta forma. La fermentación del ácido láctico también tiene lugar en las células de los músculos humanos durante un ejercicio extenuante. El calor que sientes en las piernas cuando corres porque llegas tarde a clase es producido por la fermentación que tiene lugar en las células de los músculos al fabricar ácido láctico.

Por tanto, ¿de qué manera se utilizan los microbios fermentadores para fabricar comida y bebida? Para elaborar cerveza y vino, muchos procesos necesitan de cepas silvestres de la levadura que vivan en los viñedos, así como cepas domésticas de la levadura, como es el caso de la *Saccharomyces cerevisae,* muy útil para la fermentación del alcohol. Los grandes barriles o fermentadores contienen uvas aplastadas y levadura en su interior que se mezclan con mucho cuidado y bajo un estricto control. Para fermentar, la levadura transforma el azúcar procedente de las uvas en alcohol. Los índices de fermentación se observan y controlan cuidadosamente mediante la modificación de la cantidad de oxígeno del fermentador y la temperatura. Gracias a la manipulación de los índices de fermentación, los fabricantes de vino controlan la cantidad de alcohol que contiene el vino que está fermentando hasta que éste alcance el nivel de alcohol y el sabor deseados. Las botellas de champán y otros vinos espumosos se cierran mientras que la levadura está aún presente en el líquido y fermentando activamente. El dióxido de carbono se encuentra en el interior de la botella y es liberado solamente cuando ésta se abre, produciendo en ese momento el sonido característico que hacen estas botellas. La fabricación de algunos tipos de vino requiere también la presencia de bacterias de ácido láctico como el *Oenococcus oeni,* que convertirá el sabor amargo del ácido málico que se forma durante la fermentación en el dulce sabor del ácido láctico y por tanto, dará al vino un sabor y un aroma más suaves.

Las bacterias fermentadoras de ácido láctico se utilizan para producir quesos, crema agria y yogures. El sabor ácido o agrio de estos productos se debe principalmente al ácido láctico. El yogur fue fabricado por primera vez en Bulgaria y se ha extendido por todo el mundo. El yogur, por lo general, se fabrica con una mezcla de bacterias que a menudo cuenta con cepas de microbios anaerobios de ácido láctico que pueden fermentarse, como por ejemplo el *Streptococcus thermopilus,* una cepa llamada *Lactobacillus* (*Lactobacillus delbrueckii* y *Lactobacillus bulgaricus*), y otra cepa conocida como *Lactococcus* (*Lactococcus lactis*). Los cultivos activos de estos microbios se adhieren a la mezcla de leche y azúcar del fermentador, el cual se mantiene a una temperatura constantemente controlada. Los microbios de la mezcla utilizan los azúcares para producir ácido láctico. En ese momento, se puede añadir al yogur fruta y otros productos que le den sabor, siempre antes de que se enfríe y alcance unos 4 o 5 ºC para prevenir cambios en su composición. Cuando saboreas una cucharada de yogur también estás ingiriendo una gran cantidad de microbios que se están fermentando y que aún están en el yogur. El ácido láctico y otros productos de fermentación contribuyen al dulzor y a la acidez del yogur y ayudan a que cuaje.

Otra bacteria del ácido láctico, el *Lactobacillus sakei,* está presente de forma natural en la carne fresca y el pescado. *Lactobacillus sakei* sirve de conservante biológico natural para productos cárnicos como las salchichas, impidiendo que

PyR

P ¿Por qué la levadura es importante para fabricar pan? ¿Por qué la masa del pan aumenta de volumen?

R La levadura se suele utilizar para hacer las masas tanto de *pizza* como de pan italiano y croissants. La mayoría de estas levaduras son fermentadores del alcohol (etanol), como por ejemplo la *Saccharomyces cerevisiae,* que se vende en almacenes en pequeños paquetes de levadura para postres. La levadura se añade a la mezcla de harina, agua y azúcar para hacer la masa. La *S. cerevisiae* utiliza el azúcar de la masa para fermentar el etanol y expulsar el dióxido de carbono cuando el azúcar desaparece. Las burbujas de dióxido de carbón son atrapadas en el interior de la masa haciendo que ésta se expanda y aumente. El cocinar la masa hace que el gas sea expulsado de ésta, por eso quedan agujeros en el pan. El etanol se evapora cuando el pan se está calentando. Algunos tipos de pan, como es el caso del pan de masa fermentada, se dejan a medio cocer. Esto hace que quede un poco de etanol en el pan y le da un sabor más amargo. La próxima vez que hagas una masa, déjala uno o dos días metida en una bolsa de plástico a temperatura ambiente. ¿A qué se huele en la bolsa? Ese olor amargo proviene del etanol que había en la masa.

aparezcan otros microbios no deseados que pudiesen echar a perder la comida o que causasen enfermedades. Además de producir ácido láctico, este microbio produce unas moléculas llamadas *bacteriocinas* que actúan como agentes antimicrobianos naturales que matan a otros microbios.

Proteínas terapéuticas

El desarrollo de la tecnología de DNA recombinante permitió rápidamente utilizar las bacterias para fabricar medicamentos como las proteínas terapéuticas. La insulina fue la primera molécula recombinante expresada en bacterias que se utilizan en humanos. En este caso, estudiaremos la producción de insulina como un ejemplo de cómo se pueden utilizar los microbios para fabricar proteínas terapéuticas.

Producción de insulina recombinante en bacterias

La insulina es una hormona producida por unas células del páncreas llamadas *células beta*. Cuando el páncreas secreta la insulina en el torrente sanguíneo, ésta desempeña un papel esencial en el metabolismo de los carbohidratos. Una de sus funciones primordiales es estimular la absorción de glucosa por las células del organismo, como es el caso de las células de los músculos, lugar en el cual la glucosa se disuelve para producir ATP como fuente de energía. La **diabetes de tipo I** o **diabetes mellitus dependiente de insulina** surge cuando las células beta no producen insulina. La falta de insulina tiene como resultado una elevada concentración de glucosa en sangre que puede causar una gran cantidad de problemas de salud como hipertensión, mala circulación sanguínea, cataratas y daños en el sistema nervioso. La gente que padece diabetes de tipo I necesita inyecciones regulares de insulina para controlar los niveles de azúcar en sangre.

Antes de que la tecnología de DNA recombinante existiera, la insulina que se utilizaba para combatir la diabetes se purificaba una vez extraída del páncreas de cerdos y vacas antes de ser inyectada a las personas diabéticas. El proceso de purificación era tedioso, caro y a menudo daba como resultado grupos impuros de insulina. También ocurrió que en algunos individuos la insulina purificada resultaba ineficaz y muchos otros desarrollaron alergias por culpa de esta insulina procedente de las vacas. En 1978 la insulina fue clonada en un vector de expresión plasmídico, expresada en células bacterianas y aislada por científicos de Genentech, una compañía de biotecnología de San Francisco (California). En 1982, esta insulina humana recombinante llamada Humulin fue el primer producto biotecnológico aprobado por la FDA para el consumo humano.

Por lo general, las bacterias no producen insulina, por tanto el hecho de que las bacterias recombinantes produjeran insulina humana supuso un avance significativo para la biotecnología. Hoy en día sigue siendo un claro ejemplo del éxito de la biotecnología microbiana. La insulina humana consiste en dos polipéptidos llamados cadenas o subunidades A (21 aminoácidos) y B (30 aminoácidos). Se unen unas con otras gracias a unos puentes de disulfuro para crear una hormona activa (Figura 5.9). En el interior del páncreas, las células beta sintetizan las dos cadenas de insulina en un polipéptido secretado y posteriormente cortado enzimáticamente, y plegado para unir las dos subunidades. Cuando se clonaron los genes humanos para la insulina y se expresaron en bacterias, los genes de cada una de las subunidades fueron clonados en un vector de expresión plasmídico separado que contenía el gen *lacZ* que codificaba la enzima beta-galactosidasa (β-gal) y posteriormente se usaba para transformar la bacteria (Figura 5.9).

Dado que los genes de insulina están conectados al gen *lacZ*, cuando las bacterias sintetizan las proteínas procedentes de los plásmidos los genes fabrican una proteína que contiene β-gal unida a la proteína de insulina humana y crea la proteína de fusión β-gal insulina. Tal y como vimos en la Sección 5.2, crear una proteína de fusión permite a los científicos aislar y purificar una proteína de interés como la insulina. Los extractos bacterianos pasan por una columna de afinidad para aislar las proteínas de fusión β-gal insulina (Figura 5.9). La proteína de fusión es tratada químicamente para romper la β-gal y expulsa la proteína de insulina. Una vez hecho esto, las cadenas purificadas de insulina A y B se mezclan en condiciones que permiten que las dos subunidades se unan y formen la hormona activa. Tras una mayor purificación que cumpla las pautas de la FDA, la hormona recombinante está lista para ser inyectada a los pacientes.

Poco después de que la insulina estuviera disponible en el mercado, la hormona de crecimiento (utilizada en niños que padecen enanismo) fue clonada en bacterias y se pudo utilizar también en humanos. Un tiempo después, también se dio luz verde por primera vez a diversas proteínas, difíciles de crear e importantes desde el punto de vista médico, gracias a la tecnología de DNA recombinante y a la expresión de proteínas en bacterias. Como se muestra en la Tabla 5.1, otras muchas proteínas terapéuticas con aplicaciones muy valiosas para tratar enfermedades de los seres humanos han sido expresadas y aisladas de las bacterias. La categoría más importante de medicamentos procedentes de bacterias recombinantes son las vacunas. En la Sección 5.4 estudiaremos las vacunas con mayor detalle.

Utilización de microbios contra otros microbios

Los **antibióticos** son sustancias producidas por microbios que impiden el crecimiento de otros microbios. Los antibióticos son un tipo de **medicamento antimicrobiano** que definimos generalmente como cualquier medicamento (tanto si es producido por microbios como si no) que impide la aparición de microorganismos. La penicilina fue el primer antibiótico utilizado a gran escala en humanos y su descubrimiento es un excelente ejemplo de cómo los microbios se protegen a sí mismos de otros creando sustancias antimicrobianas. Alexander Fleming fue el microbiólogo que, en 1928, descubrió que las colonias de moho *Penicillium notatum* impedían el crecimiento de la bacteria

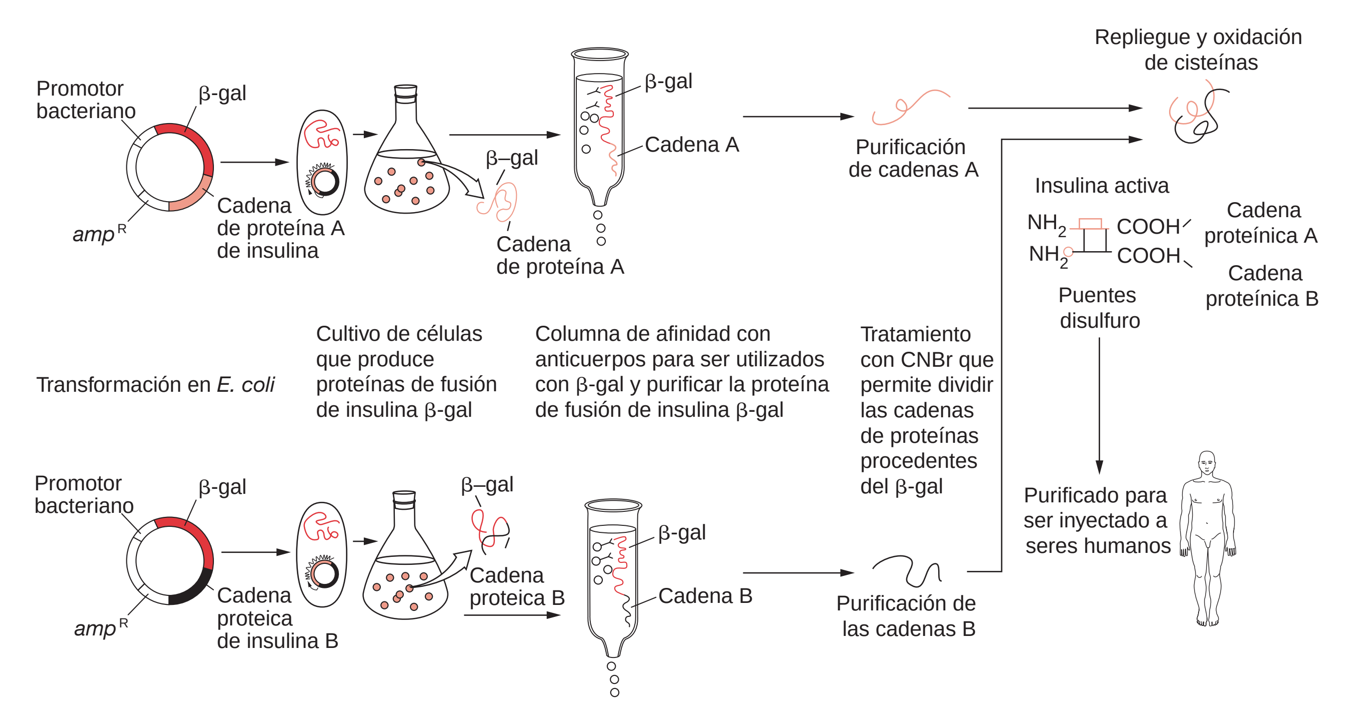


Figura 5.9 Utilización de bacterias para la producción de insulina humana La insulina fue la primera proteína expresada en bacterias recombinantes cuyo uso fue aceptado en humanos. La insulina consiste en dos cadenas proteicas (A y B) producidas a partir de genes separados. Para fabricar insulina recombinante los científicos clonaron los genes de insulina en plásmidos que contenían el gen *lacZ*, el cual codifica la enzima beta-galactosidasa (β-gal). Los plásmidos recombinantes fueron utilizados para transformar las bacterias, ya que permitían que éstas produjeran proteínas de fusión de insulina β-gal. La cromatografía por afinidad se utilizaba para aislar las proteínas de fusión, y éstas eran posteriormente tratadas químicamente para separar la insulina clonada de las proteínas β-gal. Las formas purificadas de las cadenas proteínicas de insulina A y B podían en ese momento combinarse para formar insulina activa. Esta es la que se proporciona a las personas con diabetes para controlar los niveles de azúcar en sangre.

Staphylococcus aureus. Cuando se cultivan a la vez en una placa de Petri, el *S. aureus* no era capaz de crecer en una pequeña zona de agar-agar rodeada de colonias de moho. Doce años más tarde, los científicos utilizaron el *P. notatum* para aislar el medicamento al que llamaron penicilina, y que fue fabricado en serie posteriormente y utilizado para tratar infecciones bacterianas de los humanos.

La gran mayoría de los antibióticos se aíslan de las bacterias, y la mayor parte de estas sustancias inhiben el crecimiento de otras bacterias. En los más de 60 años que siguieron al descubrimiento de la penicilina se descubrieron miles de microbios que servían para producir antibióticos, y también se aislaron cientos de antibióticos diferentes. En la Tabla 5.2 puedes ver ejemplos de los antibióticos más comunes, así como los microbios de los que proceden.

¿De qué manera afectan los antibióticos y otros medicamentos microbianos a las células bacterianas? La mayoría de estas sustancias actúan de varias formas principales. Por lo general, evitan la replicación de bacterias o directamente las matan, lo que también evita que las células afectadas se repliquen. Los antibióticos pueden dañar la pared celular o impedir su síntesis (esto es lo que hace la penicilina), bloquear la síntesis proteica, inhibir la duplicación del DNA, o inhibir la síntesis o actividad de una enzima importante necesaria para el metabolismo de la célula bacteriana (Figura 5.10, página 134).

Imagina que estornudas, te duele el cuerpo, tienes la nariz congestionada, la garganta seca, que no puedes dormir y que tienes un examen al día siguiente por la tarde. ¿Qué vas a hacer? ¡Ir al médico y decirle que te recete algún antibiótico, claro! ¿Pero crees que necesitas antibióticos de verdad? Dado que los antibióticos son eficaces solamente contra las bacterias, éstos no son útiles contra los virus como el de la gripe, por ejemplo. La resistencia de las bacterias a ciertos antibióticos se ha convertido también en un problema capital. El consumo incorrecto o abusivo del hombre y los animales de granja de los antibióticos ha hecho que la resistencia de las bacterias a los antibióticos aumente en gran medida, incluyendo también algunas cepas que ya no responden a muchos antibióticos que en su momento sí fueron eficaces.

Las cepas de *S. aureus, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus pneumoniae, M. tuberculosis* y muchas otras cepas mortales de patógenos humanos resistentes a los antibióticos han sido detectadas ya en algunos hospitales. Visto que la mayor parte de los antibióticos atacan a las células bacterianas en un número limitado de maneras (Figura 5.10), la resistencia a un antibiótico permite también que haya resistencia a otros muchos medicamentos. Por consiguiente, los nuevos medicamentos antimicrobianos que atacan a las bacterias de diferentes formas han de ser también desarrollados para tratar la comida ani-

Tabla 5.1 PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS PROCEDENTES DE BACTERIAS RECOMBINANTES

Proteína	Función	Aplicaciones médicas
Activador tisular del plasminógeno (tPA)	Disuelve los coágulos de sangre	Se usa para tratar a pacientes que sufren infartos de miocardio y víctimas de accidente cerebrovascular
DNasa	Enzima que digiere el DNA	Tratamiento de pacientes con fibrosis quística
Eritropoyetina	Estimula la producción de glóbulos rojos (poca cantidad de glóbulos rojos)	Se usa para tratar a pacientes con anemia
Factor VIII (enfermedades con hemorragia	Factores de coagulación de la sangre	Se usa para tratar ciertos tipos de hemofilia (enfermedades con hemorragia debido a deficiencias de los factores de coagulación de la sangre)
Factor estimulador de colonias de granulocitos	Estimula el crecimiento de glóbulos blancos	Se usa para aumentar la producción de ciertos tipos de glóbulos blancos y estimular la producción de células sanguíneas tras un trasplante de médula ósea
Hormona del crecimiento (humana, bovina, porcina)	La hormona estimula el crecimiento del hueso y el tejido muscular	Se usa en el hombre para tratar a pacientes con enanismo. Contribuye al aumento de peso en cerdos y vacas, y estimula la producción de leche en vacas
Insulina	Hormona necesaria para la absorción de glucosa por parte de las células del organismo	Se usa para controlar los niveles de azúcar en sangre de pacientes con diabetes
Interferones e interleucinas	Factores de crecimiento que estimulan el crecimiento y la producción de células sanguíneas	Se usan para tratar cánceres sanguíneos como la leucemia, mejoran el recuento de plaquetas y algunas son utilizadas para tratar diferentes tipos de cáncer
Superóxido dismutasa radicales libres peligrosos	Antioxidante que une y destruye los de un infarto de miocardio	Minimiza el daño tisular durante y después
Vacunas (p. ej., vacuna contra la hepatitis B)	Estimulan el sistema inmunitario para prevenir infecciones bacterianas y virales patógenos. También se usa para tratar	Se usa para inmunizar a seres humanos y animales contra una gran variedad de algunos tumores cancerígenos

Tabla 5.2 ANTIBIÓTICOS COMUNES

Antibiótico	Fuente microbiana	Usos habituales del antibiótico
Bacitracina	*Bacillus subtilis* (bacteria)	Pomada de primeros auxilios y cremas faciales
Eritromicina	*Streptomyces erythraeus* (bacteria)	Cuenta con numerosas utilidades para tratar infecciones bacterianas, especialmente en niños
Estreptomicina	*Streptomyces griseus* (bacteria)	Antibiótico oral para tratar infecciones bacterianas en niños
Neomicina	*Streptomyces fradiae* (bacteria)	Pomadas faciales y otras cremas
Penicilina	*Penicillium notatum* (hongo)	Antibiótico inyectado u oral usado en humanos y animales de granja (ganado bovino y porcino)
Tetraciclina	*Streptomyces aureofaciens* (bacteria)	Usado para tratar infecciones del tracto urinario en humanos; se suele utilizar en la alimentación animal para reducir las infecciones y estimular la ganancia de peso

mal procedente de vacas, cerdos y pollos. Los microbiólogos marinos están descubriendo nuevas cepas de microbios oceánicos que ayudan a renovar los antibióticos y los compuestos contra el cáncer. Desde las copas de los árboles hasta los casquetes polares, pasando por los desiertos y las profundidades marinas, los científicos están determinando si muchos de estos microorganismos pueden ser una posible fuente de nuevas sustancias antimicrobianas.

Otra forma de fabricar nuevos medicamentos antimicrobianos consiste en estudiar los patógenos bacterianos e identificar las toxinas y propiedades que las bacterias cau-

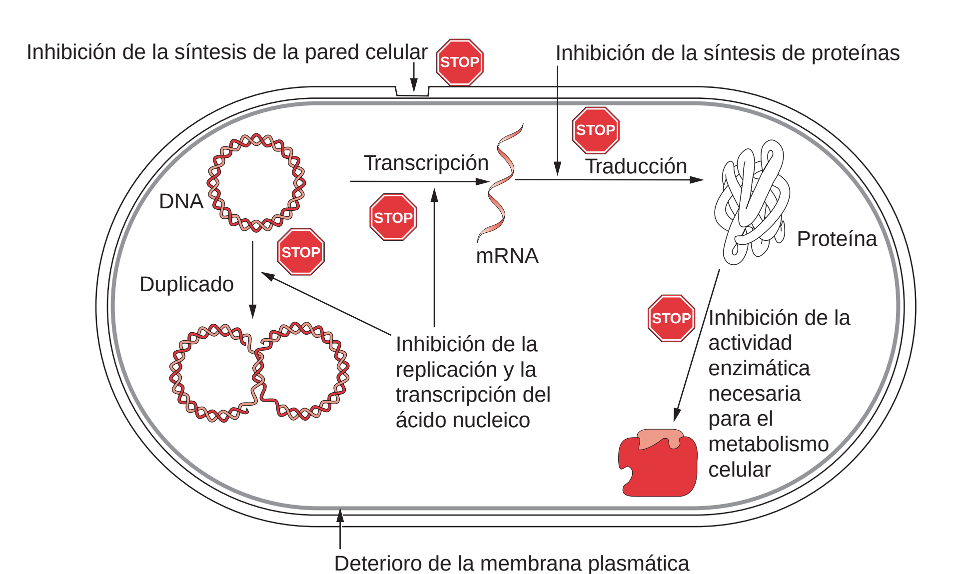


Figura 5.10 Antibióticos y otros medicamentos microbianos útiles contra los microbios de diversas formas Los antibióticos pueden acabar con los microbios directamente o impedir la replicación celular gracias a que evitan que los procesos importantes que tienen lugar en la célula bacteriana se produzcan (como es el caso de la replicación del DNA, la síntesis de proteínas y la síntesis de la pared celular bacteriana) y bloquean las enzimas necesarias para el metabolismo celular.

santes de enfermedades utilizan para desencadenar las enfermedades. Entendiendo los factores relacionados con las causas que provocan las enfermedades, los científicos pueden desarrollar nuevas estrategias para detener la duplicación bacteriana. Por ejemplo, la capacidad de algunas bacterias para causar enfermedades reside en su unión (adherencia) a los tejidos humanos. Una vez que las células bacterianas ya están unidas, pueden multiplicarse y producir las toxinas necesarias para causar la enfermedad. Los científicos están trabajando no sólo para identificar las proteínas que las bacterias usan para adherirse a los tejidos humanos y causar enfermedades, sino que también trabajan para diseñar lo que se conoce como microbios «inductores». Éstos son células bacterianas inofensivas fabricadas mediante ingeniería genética para actuar como fábricas vivientes que producen moléculas de antiadhesión, enzimas y otros agentes microbianos. Los microbios inductores desprenderían componentes antimicrobianos específicos en los pacientes para destruir el microorganismo causante de la enfermedad en 24 horas. A pesar de las estrategias antimicrobianas, los microbios siguen desempeñando un papel importante en la lucha contra microbios causantes de enfermedades y que pueden ser mortales.

Una compañía de Florida llamada Oragenics ha recibido recientemente la aprobación de la FDA para realizar unas pruebas clínicas con formas recombinantes de *Streptococcus mutans* para evaluar su seguridad y eficacia en la reducción de las caries. A diferencia de las cepas salvajes de *S. mutans* albergadas en la cavidad bucal, la cepa recombinante no puede metabolizar los azúcares para producir ácido láctico. Dado que el ácido láctico disuelve el esmalte y la dentina de los dientes, es más fácil que se produzcan caries. Los científicos van a intentar usar el *S. mutans* recombinante para colonizar la cavidad bucal y sustituir las cepas naturales de *S. mutans* para poder determinar posteriormente si las caries se reducen. Recientemente, unos científicos de UCLA crearon una piruleta sin azúcar que contenía un ingrediente con sabor a regaliz que exterminaba los *S. mutans.* Esas piruletas matabacterias están ya a la venta.

Trabajos de campo con microorganismos recombinantes

Las bacterias modificadas genéticamente se han utilizado para producir muchos productos recombinantes diferentes, y algunos de sus usos más controvertidos implican la puesta en libertad de bacterias recombinantes para trabajos de campo.

Microbios recombinantes en el campo

Muchas cepas naturales de bacterias desempeñan un papel importante en la degradación de productos de desecho y en la biorremediación de lugares contaminados. Las nuevas estrategias de biorremediación también requieren el uso de microbios modificados genéticamente que contengan genes que ayuden a estos organismos a degradar los desechos de forma rápida y eficaz cuando son vertidos al medio ambiente.

El primer trabajo de campo realizado con bacterias modificadas genéticamente fue desarrollado en la Universidad de California por un fitopatólogo llamado Steven Lindow y algunos colegas. Identificaron una cepa común de bacteria llamada *Pseudomonas syringae,* que fabrica proteínas bacterianas que estimulan la formación de cristales de hielo. El grupo de Lindow creó una bacteria «antiescarcha» quitando los genes productores de proteínas del hielo procedentes de *P. syringae.* Sugirieron que depositar las bacterias antiescarcha en las plantas haría que estas bacterias salieran hacia fuera, que el *P. syringae* formaría hielo y tendría como resultado una cosecha de plantas que pudieran congelarse pero que dispusieran de protección contra el frío, de esta manera se podría alargar cada vez más las temporadas de cosecha y aumentar los campos de cultivo.

Rodeado por una enorme controversia, Lindow tuvo el visto bueno en 1987 para probar el *P. syringae* con un cultivo de patatas. Aproximadamente al mismo tiempo, se dio permiso a otros científicos para probar la bacteria antiescarcha con fresas en una pequeña ciudad de California. Esta fue la primera vez que microbios modificados ge-

néticamente eran depositados intencionadamente en el medio ambiente en Estados Unidos. En ambos experimentos la mayoría de las plantas fueron dañadas por los activistas preocupados por la puesta en libertad de microbios alterados genéticamente. Las bacterias antiescarcha *P. syringae* parece que disponen de protección contra el frío, pero no han sido tan eficaces a la hora de favorecer el crecimiento del *P. syringae* que se forma en el hielo, tal y como Lindow y su equipo habrían esperado. Aún se siguen llevando a cabo experimentos con estas cepas. Recientemente ha sido secuenciado el genoma de una cepa de *P. syringae* que infecta al tomate, y los científicos están planeando usar la información sobre sus más de 5.500 genes para ayudar a combatir la propagación de este microbio y el daño que causa a los cultivos de tomate.

Otro ejemplo de trabajo de campo con cepas alteradas genéticamente está relacionado con *Pseudomonas fluorescens.* Se ha manipulado esta cepa y se están llevando a cabo experimentos con ella para proteger a plantas como el algodón y el maíz, importantes desde el punto de vista agrícola, de los insectos que se comen las raíces y las estropean. Los científicos han introducido un gen productor de toxinas procedente del patógeno bacteriano de un insecto *Bacillus thuringiensis* (Bt) en *P. fluorescens.* El Bt produce un gran número de toxinas que trabajan como eficaces insecticidas cuando son ingeridas por los insectos. Uno de los genes de la toxina Bt codifica la enzima galactosiltransferasa, que une los carbohidratos a lípidos y proteínas en el intestino del insecto para acabar con él. Las cepas de *P. fluorescens* productoras de toxina Bt y otras bacterias han sido esparcidas sobre las hojas de las plantas para dotar a estos cultivos de resistencia a los insectos. Cuando los insectos comen estas hojas ingieren algunas *P. fluorescens* alteradas genéticamente y mueren. En el Capítulo 6 hablaremos del papel que desempeña la toxina Bt en la creación de plantas transgénicas resistentes a los insectos.

Estos ejemplos ilustran someramente el posible papel de los microbios recombinantes en los trabajos de campo. En la Sección 5.5 aprenderás que la utilización de microbios recombinantes en el laboratorio y en el campo puede que aumente, ya que los científicos están empezando a desvelar los secretos de los genomas microbianos. En la próxima sección hablaremos de cómo se usan los microbios para fabricar vacunas, una aplicación muy importante y generalizada de la biotecnología.



TÚ DECIDES

Los microbios andan sueltos

Hemos visto las distintas aplicaciones de los microbios recombinantes. Desde el uso de bacterias alteradas genéticamente y la fabricación de proteínas recombinantes para tratar enfermedades humanas hasta la puesta en libertad de bacterias antiescarcha. Una de las muchas polémicas que existen en torno a la biotecnología microbiana es la posibilidad de que los microbios recombinantes puedan acceder al medio ambiente accidental o intencionadamente, como en el caso de los estudios antiescarcha. Si los microbios recombinantes se sueltan en el medio ambiente, ¿cómo podemos saber lo que ocurrirá al final con estos organismos?

Dado que la transferencia de genes entre bacterias es un proceso natural que tiene lugar en condiciones silvestres, los científicos están preocupados por la transferencia horizontal de genes o, lo que es lo mismo, la propagación de los genes a los microbios afines. Como resultado de la recombinación genética y de la creación de nuevos genes, se pueden producir nuevas cepas de microbios con características diferentes en función de los genes heredados. ¿Qué ocurriría si los microbios recombinantes pudieran transferir genes alterados genéticamente a otros microorganismos a los que en principio no tendrían que hacerlo? ¿Qué ocurriría, por ejemplo, si los genes bacterianos antiescarcha se transfirieran a las cepas de bacterias que están acostumbradas a vivir a bajas temperaturas? O, ¿de qué manera influiría en el crecimiento natural de muchos insectos de suelo, con características innatas muy importantes, la transferencia de genes Bt procedentes de microbios alterados genéticamente a cepas de suelo comunes de *Pseudomonas*?

Una vez que los microbios recombinantes escapan o son soltados en el medio ambiente no podemos hacer que vuelvan al laboratorio si no nos gusta lo que están haciendo en libertad. ¿Podemos evitar que estos microbios alterados genéticamente en experimentos de campo escapen? Es una tarea difícil, si no imposible, de llevar a cabo cuando el viento, la lluvia y otros elementos climatológicos entran en juego. ¿Se debería dejar en libertad a los microbios modificados genéticamente incluso cuando forman parte de experimentos «controlados» que pueden tener aplicaciones beneficiosas en biotecnología? Tú decides.

5.4 Vacunas

El uso de antibióticos y vacunas ha demostrado ser muy eficaz para el tratamiento de numerosas enfermedades infecciosas del hombre causadas por microorganismos (Figura 5.11). Estas medidas han funcionado por lo general para tratar enfermedades causadas por microbios en seres humanos y animales. Sin embargo, los **patógenos** (microbios causantes de una enfermedad) resistentes a la mayoría de los antibióticos y vacunas utilizados por la gente han aumentado y ponen en tela de juicio la eficacia de vacunas y antibióticos. Las enfermedades infecciosas causadas por microbios afectan a todos, y son responsables de un 60 por ciento de las muertes de niños menores de cuatro años en todo el mundo. Ni que decir tiene que nuestra capacidad para prevenir, detectar y tratar las enfermedades infecciosas es un aspecto importante de la biotecnología microbiana, y las vacunas desempeñan un papel esencial en este proceso. ¿Cuál es la diferencia entre un antibiótico y una vacuna? ¿Cómo funcionan las vacunas?

La primera vacuna del mundo se desarrolló en 1796, cuando Edward Jenner demostró que un virus de la vi-



Figura 5.11 Uso de antibióticos y vacunas para combatir enfermedades infecciosas causadas por microorganismos Aunque el uso de antibióticos y vacunas ha hecho disminuir la frecuencia de enfermedades humanas causadas por microorganismos en Estados Unidos, está aumentando el número de nuevas cepas de microbios que muestran resistencia a muchos antibióticos conocidos y vacunas. Se requieren nuevos antibióticos y vacunas que combatan estos microbios.

* Informe de la American Society for Microbiology (Sociedad americana de microbiología): Sesión informativa del Congreso. Amenazas de enfermedades infecciosas, 2001.

ruela vivo podía utilizarse para vacunar a los seres humanos contra la viruela. La viruela y la viruela bovina son virus relativamente próximos el uno del otro. Las epidemias de viruela devastaron por completo algunas regiones de Europa y alrededor de un 80 por ciento o más de los nativos americanos de la costa este de Estados Unidos murieron a causa de las infecciones de viruela traídas por los europeos que se establecieron en Norteamérica. La viruela bovina produce ampollas y heridas en las ubres de las vacas y produce úlceras de piel similares en el hombre. Teniendo en cuenta las afirmaciones de una lechera que decía que las infecciones de viruela bovina la protegían de la viruela, Jenner preparó su vacuna. Recogió fluidos procedentes de ampollas de la lechera producidas por la viruela bovina, y usó las agujas que contenían este fluido para arañar la piel de voluntarios sanos. Su primer «paciente» fue un niño de ocho años. La mayoría de los voluntarios de Jenner no desarrolló ni la viruela bovina ni la viruela, ni siquiera cuando fueron expuestos posteriormente a personas infectadas por la viruela. El haber estado expuestos al fluido de viruela bovina había estimulado el sistema inmunológico de los voluntarios de Jenner, lo que hizo que desarrollaran una protección contra la viruela.

Estos experimentos demostraron el potencial de la **vacunación** (que debe su nombre a la palabra latina *vacca,* que significa «vaca») al usar agentes infecciosos para proporcionar protección inmune contra las enfermedades. Aunque Estados Unidos detuvo las campañas de vacunación rutinaria de viruela en 1972, hacia 1980, posteriores aplicaciones generalizadas de la vacuna habían erradicado esta enfermedad. En Estados Unidos se vacuna de forma rutinaria a los recién nacidos, a los niños y a los adultos. Aunque no recuerdes tu primera vacuna (suele tener lugar entre los 2 y los 15 meses) probablemente te vacunaron con la **vacuna DPT,** que proporciona varios años de protección contra tres toxinas bacterianas llamadas difteria, tosferina y tétanos. Otra vacuna de la infancia es la **triple vírica** (sarampión, paperas y rubeola).

Probablemente también te pusieron la vacuna **OPV** (vacuna oral contra la polio) contra el virus de la polio, una cepa que infecta a las neuronas de la espina dorsal causando una parálisis devastadora llamada poliomielitis (polio). Al igual que la vacuna de la viruela, la OPV ha disminuido enormemente la aparición de la polio. Ha sido prácticamente erradicada en Norteamérica, Sudamérica y la mayor parte de Europa. Sin embargo, aún existe en otros lugares del mundo. La polio fue en su momento una enfermedad bastante común que acabó con la vida de millones de niños en todo el mundo antes de 1954, cuando Jonas Salk desarrolló la primera vacuna contra la polio. La vacuna original de Salk requería ser inyectada; Albert Sabin desarrolló en 1961 la versión actual, que puede ser administrada por vía oral. Para entender cómo funcionan las vacunas has de familiarizarte con los aspectos fundamentales del sistema inmunológico humano.

Una introducción a los anticuerpos

El sistema inmunológico del hombre y de los animales es verdaderamente complejo. Numerosas células de todo el cuerpo trabajan conjuntamente de forma muy compleja para reconocer materiales externos que entran en nuestro cuerpo preparando un ataque que los neutralice o los destruya. Las sustancias extrañas que estimulan la respuesta inmune se llaman **antígenos,** y en este grupo se incluyen todas las bacterias, hongos, y virus o moléculas individuales como las proteínas o los lípidos que se encuentran en el polen. Por ejemplo, la gente que tiene alergia a ciertas comidas dispone de respuestas inmunes para las proteínas, los carbohidratos y los lípidos para esas comidas.

En general, el sistema inmunológico responde a los antígenos fabricando anticuerpos. Esta respuesta se conoce como **inmunidad mediada por anticuerpos.** Cuando los **linfocitos B** (o **células B** simplemente) se ven expuestos a los antígenos, un tipo de glóbulos blancos o **leucocitos,** reconocen al antígeno y se unen a él. Los **linfocitos T (células T)** desempeñan un papel esencial a la hora de ayudar a las células B a reconocer y responder al antígeno. Tras estar expuestas a un antígeno, las células B se diferencian para formar **células plasmáticas,** que producen y secretan anticuerpos. La mayoría de los anticuerpos se liberan en el torrente sanguíneo, pero también hay anticuerpos en la saliva, las lágrimas y los fluidos que revisten el aparato digestivo, entre otros. Uno de los objetivos de la producción de anticuerpos es proporcionar una protección duradera contra los antígenos. Durante el proceso de desarrollo de las células B, algunas de estas células se convierten en células «memoria», que tienen la capacidad de reconocer cuerpos ex-

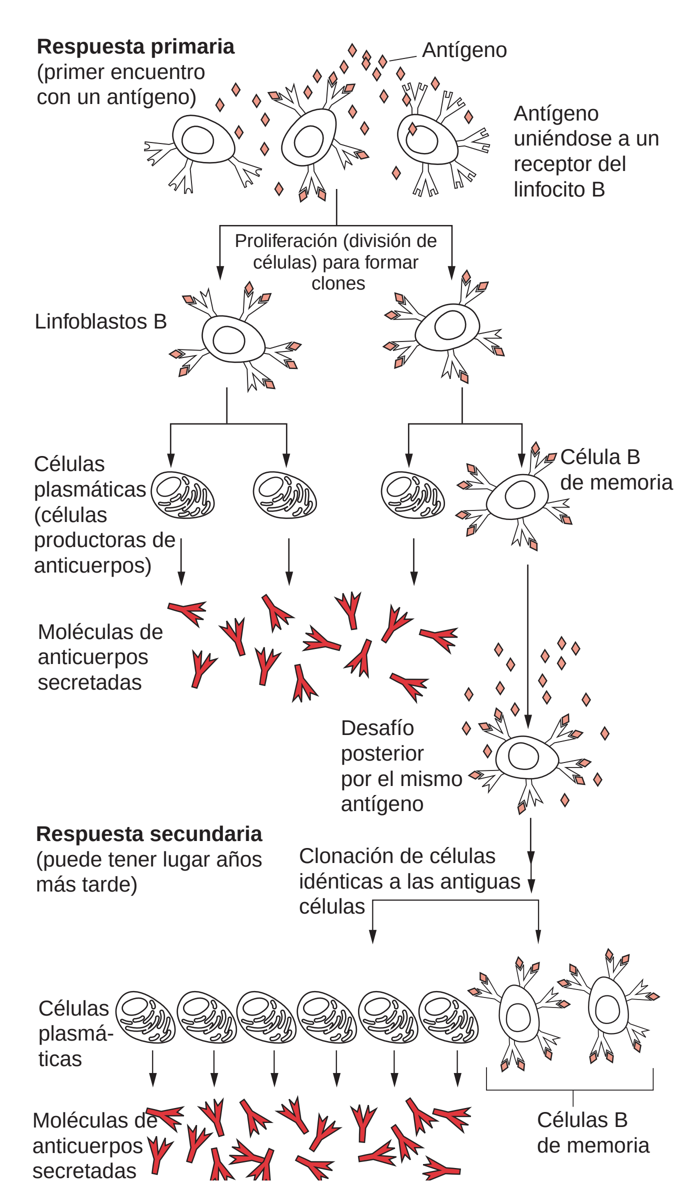


Figura 5.12 Los antígenos estimulan la producción de anticuerpos por parte del sistema inmunológico Como respuesta a la primera exposición a un antígeno, que puede contener muchas células o moléculas individuales, las células B se dividen repetidas veces para formar muchas otras células B (clones). Las células B se diferencian a células plasmáticas en que producen anticuerpos específicos para el antígeno. Durante este proceso, se forman las células de memoria B. Si una persona se ve expuesta al mismo antígeno posteriormente, años más tarde incluso, las células de memoria B pueden reconocerlo y producir una respuesta más fuerte y rápida contra ese antígeno.

traños años más tarde, y responden ante ellos creciendo y produciendo más células plasmáticas y anticuerpos que dotan al organismo de una protección a largo plazo contra los antígenos (Figura 5.12).

Cada anticuerpo protege contra un antígeno específico para el cual fue fabricado, pero, ¿de qué manera esas proteínas protegen el cuerpo contra cuerpos extraños? Muchos anticuerpos se adhieren y cubren al antígeno para el cual fueron fabricados (Figura 5.13). Una vez que los antígenos están recubiertos de anticuerpos, un tipo de leucocito llamado **macrófago** puede reconocerlos. Los macrófagos son células muy eficaces en la fagocitosis (que significa literalmente «comer células», y que proviene de los términos griegos *phago*, comer, y *cyto*, célula). Durante la fagocitosis los macrófagos engullen a los antígenos recubiertos de anticuerpos. Entonces, los orgánulos del macrófago llamados *lisosomas* liberan enzimas digestivas que degradan el antígeno (Figura 5.13). Cuando un antígeno es una célula extraña, como puede ser el caso de una bacteria, algunos anticuerpos ponen en marcha una serie de mecanismos para romper la célula. Estos mecanismos son conocidos como *lisis celular*.

Estamos expuestos constantemente a los antígenos para los cuales nuestro sistema inmunológico desarrolla anticuerpos. Pero a veces, la producción natural de anticuerpos no es suficiente para protegernos de patógenos como la viruela, el virus de la hepatitis y el HIV/sida. La biotecnología puede ayudar al sistema inmunológico mejorando nuestra inmunidad gracias al uso de vacunas.

¿Cómo se fabrican las vacunas?

Las **vacunas** son partes de un patógeno u organismos completos que pueden ser administradas a humanos o animales por vía oral o por medio de una inyección que estimule el sistema inmune contra la infección provocada por esos patógenos. Cuando una persona o un animal es vacunado, su sistema inmune reconoce la vacuna como un antígeno y responde fabricando anticuerpos y células B de memoria. Al estimular el sistema inmune, la vacuna presiona al sistema inmunológico para que fabrique anticuerpos de reserva y células de memoria inmunes que puedan trabajar estando expuestas al patógeno real en el caso de que esto ocurra. La vacunación se usa en mascotas, animales de granja, animales de zoológico e incluso en muchos animales salvajes.

Tipos de vacunas

¿Cómo se fabrican las vacunas entonces? Se suelen utilizar tres estrategias principales para crear respuestas inmunes mediante el uso de vacunas. Las **vacunas de subunidades** se fabrican inyectando porciones de estructuras virales y bacterianas, que son a menudo proteínas o lípidos del propio microbio, ante las cuales el sistema inmune responde. Una vacuna bastante efectiva contra la hepatitis B fue uno de los primeros ejemplos de vacuna de subunidad. También son vacunas de subunidad las vacunas contra el tétanos y el carbunco. Las **vacunas atenuadas** requieren que se utilicen bacterias o virus vivos que hayan sido debilitados por el tiempo o por haber alterado los factores de crecimiento de éstos para prevenir su duplicado después de que sean introducidos en el medidor de la vacuna. La vacuna de Sabin contra la polio es una vacuna atenuada, al igual que la vacuna triple vírica, la vacuna contra la tuberculosis, la vacuna contra el cólera, y la vacuna contra la varicela, entre otras. Por último, para fabricar las **vacunas inactivadas** se acaba con

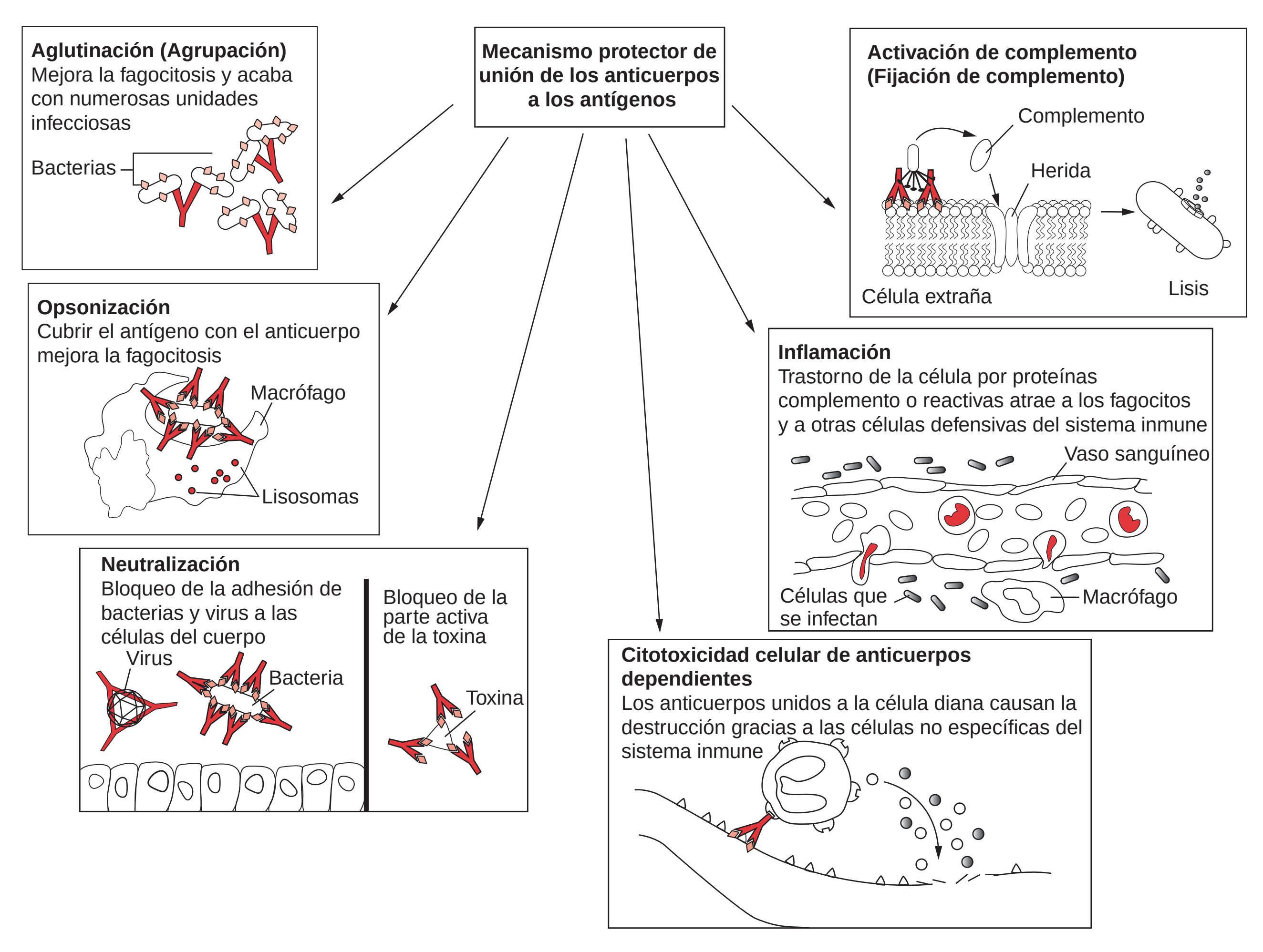


Figura 5.13 **Mecanismos de acción de los anticuerpos** Los anticuerpos pueden inactivar y destruir los antígenos de muchas formas.

los patógenos y se usa el microorganismo muerto o inactivo para la vacuna. Para la vacuna de Salk contra la polio se usa una mezcla de virus de la polio inactivado. La vacuna contra la rabia que se administra mediante una inyección a perros, gatos y seres humanos y la vacuna contra la gripe que se ha convertido en algo común en estos años, son también ejemplos de vacunas inactivadas. Las vacunas inactivadas contra la gripe también están disponibles como *spray* nasal.

Ya se han inventado las vacunas de DNA pero aún no han demostrado generar un estímulo inmune lo suficientemente fuerte. Sin embargo, en 2005 el Departamento de Agricultura de Estados Unidos aprobó la primera vacuna de DNA autorizada del mundo, una vacuna contra el virus del Nilo Occidental (WNV). Desarrollada por los Laboratorios Fort Dodge en Fort Dodge (Iowa), esta vacuna fue diseñada para proteger a los caballos del WNV, un virus que se transmite por la picadura de un mosquito. Las infecciones equinas por WNV están aumentando, y alrededor de un tercio de los caballos infectados por WNV morirán o se les practicará la eutanasia.

La inmunidad a las vacunas puede aparecer con el tiempo, particularmente cuando se trata de vacunas inactivadas, que frecuentemente no producen una respuesta inmune fuerte. Por este motivo muchas vacunas requieren un «refuerzo» cada pocos años para volver a estimular el sistema inmune y que éste continúe produciendo un alto nivel de anticuerpos y células de memoria inmunes. La vacuna del DPT es eficaz durante diez años, por ejemplo, al igual que la del tétanos; la vacuna contra la gripe en ocasiones requiere ser inoculada anualmente porque las cepas de este virus evolucionan cada año.

Las vacunas atenuadas e inactivadas fueron las primeras vacunas que se crearon. Algunas vacunas de subunidades contra las bacterias fueron creadas anteriormente a la tecnología de DNA recombinante gracias al cultivo de patógenos bacterianos en un medio de cultivo líquido. Muchas bacterias liberan proteínas en el medio circundante, y estas proteínas pueden ser purificadas y mezcladas con los componentes que ayudarán a estimular la respuesta inmune una vez sean inyectadas en el hombre. A medida que los científicos han aprendido más sobre la estructura molecular de muchos patógenos, los ensayos con vacunas de subunidades recombinantes se han hecho más populares. Por ejemplo, el virus de la hepatitis B se transmite por la sangre debido a la exposición a fluidos corporales, relaciones sexuales y transfusiones sanguíneas contaminadas. La hepatitis B causa enferme-

dades de hígado mortales. Cuando se fabricó la vacuna contra la hepatitis B por primera vez, los científicos aislaron el virus de la sangre de pacientes infectados y posteriormente usaron técnicas bioquímicas para purificar las proteínas virales. Después, esas proteínas fueron inyectadas en forma de vacuna a los seres humanos. La vacuna de la hepatitis B se recomienda a personas que hacen viajes internacionales, sobre todo a la gente que viaja a África y Asia, y a personas que trabajan en la sanidad o que puedan estar en contacto con personas infectadas por la hepatitis o con sus fluidos corporales. Actualmente la mayoría de las vacunas de subunidades, incluyendo la vacuna contra la hepatitis B, se hacen mediante estrategias de DNA recombinante en las que la vacuna se produce en microbios.

En el caso de la vacuna contra la hepatitis B, los científicos clonaron los genes para las proteínas en la superficie externa del virus para obtener plásmidos. Las levaduras transformadas por estos plásmidos se usan para expresar grandes cantidades de proteínas virales como proteínas de fusión, que son purificadas más tarde y usadas para vacunar a la gente contra la hepatitis B. Este enfoque es una estrategia habitual para producir vacunas subunidades, aunque a veces las proteínas de fusión son expresadas en bacterias o en cultivos de células madre. Como verás en la Sección 5.5, muchos científicos están trabajando en un proyecto genoma microbiano para caracterizar más genes bacterianos y virales que puedan ayudar en el desarrollo de nuevas vacunas.

En 2005 la compañía farmacéutica Merck recibió luz verde de la FDA para comercializar Gardasil, una vacuna recombinante de subunidad contra el cáncer cervical y que fue al mismo tiempo la primera vacuna contra el cáncer aprobada por la FDA. El Gardasil tiene como objetivo cuatro cepas específicas del **virus del papiloma humano (HPV),** que causa alrededor del 70 por ciento de los cánceres cervicales (cepas 16 y 18 de HPV) y un alto porcentaje de verrugas genitales (causadas por las cepas 6 y 11 de HPV). El cáncer cervical afecta a 1 de cada 130 mujeres, cerca de medio millón de mujeres en el mundo, y aproximadamente el 70 por ciento de las mujeres que mantienen una vida sexual activa serán infectadas por el HPV durante su vida. En Estados Unidos, más de 10.000 mujeres padecen cada año cáncer cervical y cerca de 4.000 mueren a causa de esta enfermedad. Suministrado en tres dosis, el Gardasil ha sido concebido como una vacuna profiláctica para mujeres entre 9 y 26 años, lo que significa que está pensado para que proporcione protección inmune anterior a la exposición al HPV. Merck recomienda que el Gardasil sea proporcionado a las adolescentes antes de que comiencen a tener una vida sexual activa. Varios estados están a la espera de una ley para solicitar que se vacune a los escolares con Gardasil.

Lo ideal es que el sistema inmune pueda ser más eficaz durante las primeras fases de exposición a un agente infeccioso, ya que en ese momento las células inmunes pueden atacar a los patógenos tan pronto como éstos accedan al interior del cuerpo. Los virus causantes de enfermedades utilizan numerosas y complejas formas de infectar las células, duplicarse y causar una enfermedad. Por ejemplo, el HIV infecta por lo general a las células inmunes de los seres humanos uniéndose a ellas e inyectándoles su propio genoma RNA (Figura 5.14). La enzima retrotranscriptasa copia el genoma del HIV en el DNA. El HIV y otros virus que transcriben sus genomas RNA al DNA se denominan **retrovirus.** Una vez que el genoma viral ha sido copiado se transcribe para fabricar RNA y se traduce para producir proteínas virales que se unan para crear más partículas virales procedentes de las células infectadas. Hemos presentado esta breve visión general del duplicado viral porque cada etapa representa esencialmente un objetivo potencial para los medicamentos antivirales, incluidas algunas vacunas.

Objetivos bacterianos y virales de las vacunas

Los patógenos están cambiando constantemente, por lo que las cepas resistentes tanto a medicamentos como a vacunas están aumentando, así como nuevas cepas de bacterias causantes de enfermedades y virus. Debido a que existen más microbios infecciosos que vacunas, es prioritario llevar a cabo más investigaciones para mejorar las vacunas ya existentes y producir otras nuevas. Algunas de esas enfermedades para las cuales se están creando o mejorando vacunas son la hepatitis A, B, C y D, las enfermedades de transmisión sexual (herpes, gonorrea y clamidia), el HIV, la gripe, la malaria y la tuberculosis. Más adelante consideraremos algunos de los objetivos de las nuevas vacunas.

La gripe es causada por un gran número de virus que pertenecen a la familia de los virus de la **gripe.** Aunque la mayoría de las personas sufre los síntomas de la gripe sólo durante unos días, y éstos se pueden tratar con medicamentos que no requieren receta médica, la gripe mata todos los años aproximadamente entre 500.000 y 1 millón de personas en todo el mundo. Dado que el virus de la gripe muta tan rápidamente, no existe vacuna alguna que proteja contra todas las cepas. Actualmente se están creando todos los años nuevas vacunas contra la gripe teniendo en cuenta las tres cepas principales del virus de la gripe que se espera que prevalezcan durante la estación en la que la gripe comienza a actuar. Los virus que se usan en esta vacuna crecen en el interior de huevos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), un grupo internacional que observa las enfermedades infecciosas y los virus, dispone de centros en unos 80 países para poder recoger y someter a investigaciones muestras de gripe para su análisis y desarrollo de vacunas como estrategia de tratamiento. Los científicos que investigan enfermedades infecciosas están considerando la creación de un «laboratorio global» para observar las cepas de los virus de la gripe en todo el mundo, duplicar estos virus y después usar las técnicas de DNA recombinante para producir vacunas de subunidades que respondan a las nuevas cepas virales detectadas. Esta estrategia es una propuesta de vigilancia de respuesta rápida que sirve para

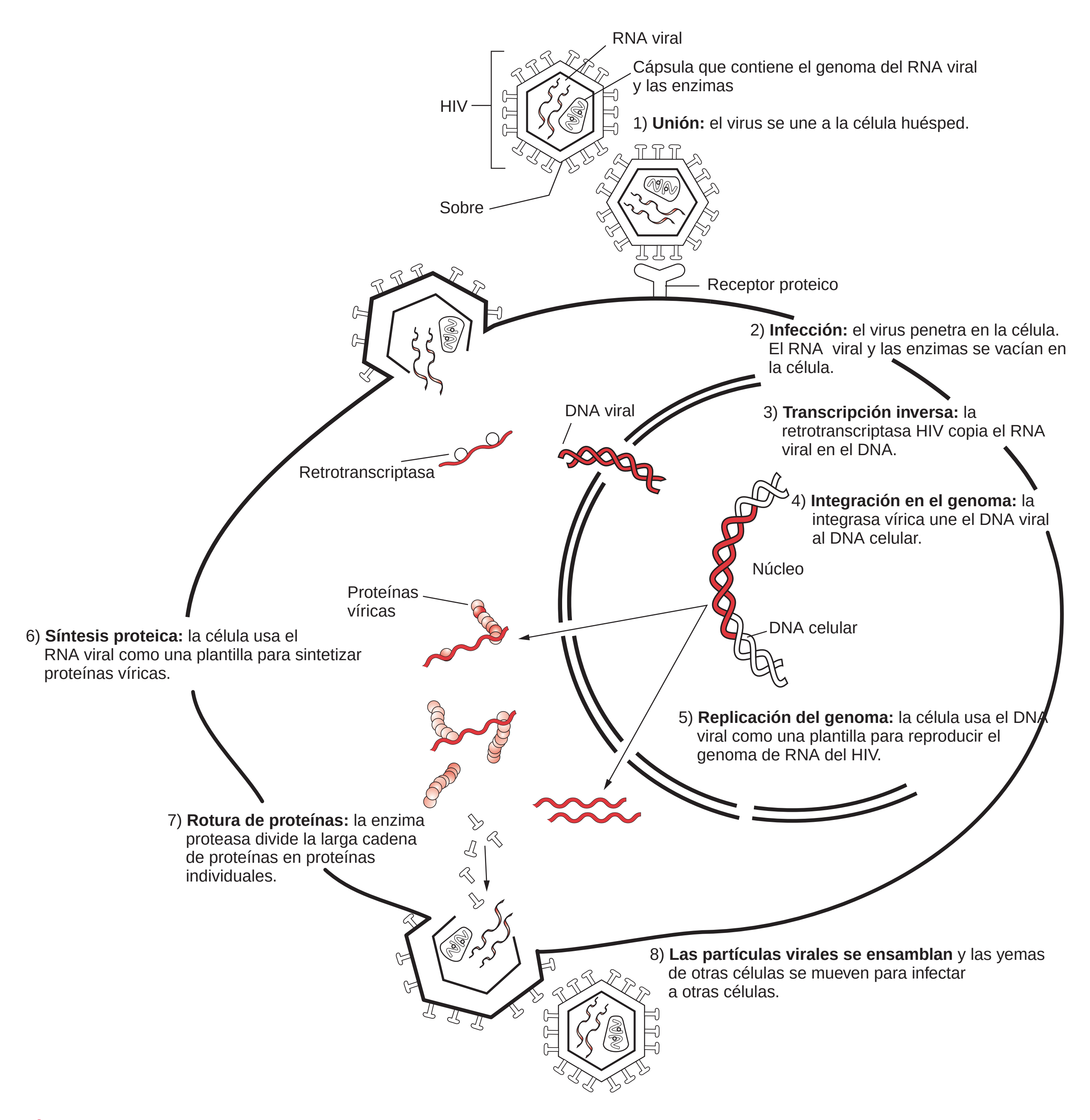


Figura 5.14 Ciclo de vida del HIV Cada estadio de duplicación del HIV es un objetivo posible para los medicamentos antivirales y algunas vacunas.

mantener los nuevos patógenos y producir las vacunas que se necesiten. En el futuro, es probable que se amplíe a muchos otros organismos causantes de enfermedades.

Al mutar tan rápido, la gripe A representa una de las mayores amenazas posibles para la salud humana a través de una *pandemia* o catástrofe global. Las cepas pandémicas de la gripe A aumentaron en el pasado. En 1918, el virus de la gripe mató al menos a 20 millones de personas. Otras pandemias tuvieron lugar en 1957 y 1968 y los epidemiólogos predicen que una futura pandemia podría ser mucho peor que en anteriores ocasiones. Una preocupación reciente es el crecimiento de la cepa de la **gripe aviar,** que ha recibido mucha atención mediática debido a que está presente en las gallinas. Las variaciones en la gripe A se deben a dos glucoproteínas llamadas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) que se proyectan desde la superficie del virus. La gripe aviar es un subtipo de gripe A llamado H5N1 debido a la variación de estas dos prote-

ínas contenidas en esta cepa, cuyas abreviaturas son H y N cuando se utilizan para nombrar a una cepa.

En 2003, la cepa H5N1 causó una pandemia entre los pollos en Asia que tuvo como resultado el sacrificio de alrededor de 200 millones de aves en un esfuerzo por detener su propagación. Al igual que ocurre con otros virus, los científicos están al tanto de que esta cepa puede mutar y afectar a los seres humanos. Aunque sólo ha habido unos pocos casos de seres humanos infectados y aún no ha tenido lugar la infección generalizada, sí se ha producido la transmisión del virus entre aves y cerdos. La mutación del virus en los cerdos podría generar una cepa que infectaría a los humanos. Dado que un virus como éste podría causar un desastre, la OMS ha declarado que la creación de una vacuna que proteja contra el H5N1 es una prioridad.

La **tuberculosis (TB),** originada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis,* es responsable de la muerte de entre 2 y 3 millones de personas cada año. Las partículas inhaladas del *M. tuberculosis* pueden infectar el tejido pulmonar, creando lesiones primarias llamadas *tubérculos.* La propagación de la TB ha sido controlada en muchos lugares del mundo gracias a la utilización de antibióticos y vacunas. Sin embargo, la TB ha resurgido debido a que *M. tuberculosis* ha demostrado tener una gran habilidad para desarrollar nuevas cepas resistentes al tratamiento. La preocupación generada por estas nuevas cepas es tal que en 1993 la OMS declaró la TB una emergencia de salud global y puso en marcha numerosas iniciativas de investigación. La Fundación Bill y Melinda Gates, junto con otras organizaciones, ha donado alrededor de 30 millones de dólares para llevar a cabo este esfuerzo. En 1998, se secuenció el genoma del *M. tuberculosis.* Como resultado de ello, se descubrieron nuevas proteínas que condujeron al desarrollo de nuevas vacunas contra la tuberculosis, muchas de las cuales son actualmente objeto de ensayos clínicos.

La **malaria** está causada por el protozoo parásito *Plasmodium falciparum* y es transmitida por los insectos. Las cepas de *Plasmodium* de todo el mundo están desarrollando una resistencia a los medicamentos utilizados con más frecuencia contra la malaria. Aunque estos medicamentos han sido eficaces en ciertos lugares del mundo, la tasa de mortalidad provocada por la malaria sigue siendo inadmisible. Cada año aparecen aproximadamente 500 millones de casos de niños infectados por el *Plasmodium,* que causa unos 3 millones de muertos. Los investigadores de Sanaria Inc. están desarrollando una vacuna atenuada que pronto estará preparada para los ensayos clínicos. Además, se ha construido el chip del genoma completo del *Plasmodium* para ayudar a los científicos a identificar los nuevos genes diana para inhibir este parásito.

Por otro lado, más de 33 millones de personas están infectadas por el HIV en todo el mundo. La necesidad de una vacuna para tratar y detener la propagación del HIV es algo inminente si queremos frenar esta devastadora enfermedad y acabar definitivamente con la epidemia de sida. Algunas vacunas que previenen las infecciones de HIV o el tratamiento de individuos infectados por el HIV se han probado en seres humanos. La mayoría de estas vacunas tienen como objetivo las proteínas de la superficie viral, pero hasta la fecha ninguna de estas vacunas ha cumplido con las expectativas. Actualmente, uno de los mayores obstáculos a los cuales se enfrentan los científicos que trabajan en la vacuna contra el HIV es su alto índice de mutación. Por consiguiente, las vacunas de multisubunidades llamadas *cócteles* (contienen mezclas de muchas proteínas virales con medicamentos antivirales que bloquean la replicación viral) pueden resultar una estrategia más eficaz para combatir el HIV que vacunas o medicamentos antivirales por separado. Se están desarrollando algunas estrategias similares para tratar otros virus como el de la hepatitis B y C.

Continuaremos hablando de la creación de vacunas y sus aplicaciones en el Capítulo 11. En el próximo apartado consideraremos muchas de las razones para secuenciar los genomas microbianos y las herramientas utilizadas para realizar este trabajo.

5.5 Genomas microbianos

En 1995, el Institute for Genomic Research (Instituto de Investigación Genómica), que ha desempeñado el papel más importante en el Proyecto del Genoma Humano, presentó un informe con la primera secuencia completa de un genoma microbiano del *Haemophilus influenzae.* Desde entonces, se han publicado alrededor de 100 genomas microbianos y se sigue trabajando en el genoma de varios cientos más. En 1994, como ampliación del Proyecto del Genoma Humano, el Departamento de energía de Estados Unidos inició el **Programa del Genoma Microbiano (MGP),** uno de cuyos objetivos es secuenciar el genoma de los microorganismos que tienen aplicaciones potenciales en biología medioambiental, investigación, industria y salud, como es el caso de las bacterias que causan la tuberculosis, la gonorrea y el cólera, al igual que los genomas de los protozoos patógenos como el organismo *(Plasmodium)* que causa la malaria. A principios de 2008, los Institutos Nacionales de Salud anunciaron sus planes para el **Proyecto del Microbioma Humano,** un proyecto de cinco años de duración y subvencionado con 115 millones de dólares para secuenciar aproximadamente 600 genomas de microorganismos que viven en el interior de los seres humanos.

¿Por qué secuenciar los genomas microbianos?

Streptococcus pneumoniae, la bacteria que causa infecciones de oído y pulmón, entre las cuales se encuentra la neumonía, mata aproximadamente a 3 millones de niños cada año en todo el mundo. Las infecciones por *S. pneumoniae,* que también pueden causar meningitis bacteriana, se tratan eficazmente desde 1946 con vacunas que generan proteínas y moléculas de azúcar que cubren la bacteria. Pero muchas de esas vacunas no son eficaces en los niños pe-

queños, particularmente susceptibles de contraer infecciones con graves repercusiones en su salud. En 2001, el genoma *S. pneumoniae* fue secuenciado completamente y se identificaron muchos genes que codificaban proteínas desconocidas anteriormente en la superficie de las bacterias. Los investigadores son optimistas y creen que esta nueva forma de comprender el genoma de *S. pneumoniae* liderará nuevos tratamientos para combatir la neumonía, incluyendo terapias génicas que evitarán que los niños desarrollen infecciones que pueden persistir durante años.

Éste es solamente un ejemplo del enorme potencial de los genomas a la hora de trabajar. Si revelamos los secretos de los genomas bacterianos mantenemos la promesa de desarrollar una comprensión básica de la biología molecular de los microbios. Secuenciar los genomas microbianos permitirá a los científicos identificar muchos secretos de las bacterias: desde los genes implicados en el metabolismo celular de las bacterias y la división celular hasta los genes que provocan enfermedades en seres humanos y animales. Además, los investigadores descubrirán genomas bacterianos que permitirán a los científicos crear nuevas cepas de microbios que puedan ser usadas como biorremedios, reducir el dióxido de carbono atmosférico y otros gases de efecto invernadero, encontrar organismos que transmitan enfermedades presentes en la comida y el agua, detectar armas biológicas, sintetizar plásticos, crear mejores productos alimenticios y producir bacterias alteradas genéticamente que sirvan de biosensores que detecten las sustancias dañinas, entre otros muchos ejemplos.

Los científicos llevan estudiando la genética de la bacteria del ácido láctico desde hace unos 35 años para entender cómo estas bacterias contribuyen en el sabor y la textura del queso, la leche y otros productos de los que ya hemos hablado. Actualmente, se han completado los proyectos genómicos de varias docenas de bacterias de ácido láctico. Estos proyectos han servido de ayuda ya a los bromatólogos para utilizar mejor las diferentes cepas con el objetivo de fabricar quesos específicos con un sabor mejorado y para perfeccionar las condiciones de los cultivos para maximizar la capacidad de crecimiento de los distintos tipos de microbios.

Para muchos microbiólogos son particularmente interesantes los genes implicados en las infecciones y en la capacidad de provocar enfermedades que tienen muchos patógenos bacterianos. Comprender los genomas bacterianos permitirá a los microbiólogos entender mejor cómo actúan los microbios sobre nuestra salud y cómo causan enfermedades. Determinar la secuencia del DNA de un microbio nos dará acceso a secuencias y estructuras proteicas. También se espera que nuestra capacidad de secuenciar genomas microbianos nos conduzca hasta nuevos y más rápidos métodos de diagnóstico y formas de tratar enfermedades infecciosas. Si por ejemplo los científicos secuencian genes que codifican las proteínas de la superficie de la célula que cubren un patógeno bacteriano particular, tal vez sean capaces de usar esas proteínas para generar nuevas herramientas de diagnóstico, vacunas y agentes antimicrobianos.

El estudio de los genomas de microbios intestinales y fecales ha revelado que cientos de bacterias están implicadas en la digestión de alimentos y en el cuidado de nuestro intestino. Además, sabemos que hay 1.200 bacteriófagos diferentes en el intestino y no sabemos prácticamente nada sobre más de la mitad de ellos (recuerda que en el Capítulo 3 vimos que los fagos son virus que infectan a las bacterias). Como ejemplo no médico del genoma, los investigadores de la Universidad Estatal de Michigan completaron el genoma del *Fusarium graminearum,* un enemigo para los fabricantes de pan y cerveza. Este hongo infecta a las cosechas de trigo y cebada echándolas a perder, y los brotes de este patógeno han tenido como resultado la pérdida de miles de millones de dólares de cosechas. Dado que las estrategias tradicionales para controlar el *Fusarium* no están funcionando, los científicos esperan que comprender el genoma de éste les conducirá a métodos eficaces para prevenir su crecimiento. Ya han empezado a trabajar para inhibir los genes implicados en la liberación de nuevas partículas de hongos llamadas vainas de las esporas.

Las bacterias llevan a cabo una enorme actividad bioquímica, lo cual repercute en sus genomas. De los genomas microbianos secuenciados hasta la fecha, aproximadamente el 45 por ciento de los genes identificados producen proteínas cuyas funciones son desconocidas, y aproximadamente el 25 por ciento de los genes descubiertos producen proteínas exclusivas del genoma bacteriano secuenciado. Por tanto, su potencial para identificar nuevos genes y proteínas con propiedades únicas que pueden tener importantes aplicaciones en biotecnología es muy alto.

Estrategias para secuenciar el genoma microbiano

Aunque los microbios disponen de genomas sustancialmente más pequeños que los del hombre, muchas de las técnicas utilizadas para el Proyecto del Genoma Humano se han aplicado también para clonar y secuenciar los genomas bacterianos. La Figura 5.15 ilustra las estrategias de clonación y secuenciado aleatorio que han dominado los métodos utilizados para secuenciar los genomas bacterianos. Recordemos del Capítulo 3 que las estrategias aleatorias a menudo implican la creación de una librería genómina o de fragmentos de cDNA de diferentes tamaños, clonando al azar esos fragmentos en plásmidos u otros vectores (aunque hoy en día la secuenciación se puede hacer sin clonar fragmentos en vectores), y secuenciándolos posteriormente. Finalmente, las secuencias de DNA de estos fragmentos pueden ser comparadas y las secuencias de solapamiento pueden utilizarse para reconstruir fragmentos de DNA de cromosomas completos. Las secuencias de DNA dependen por tanto de un proceso llamado **anotación,** que implica la búsqueda de bases de datos para identificar genes en los genomas microbianos que ya hayan podido ser identificados y asignar nombres y posibles funciones a todos los genes predichos que sea

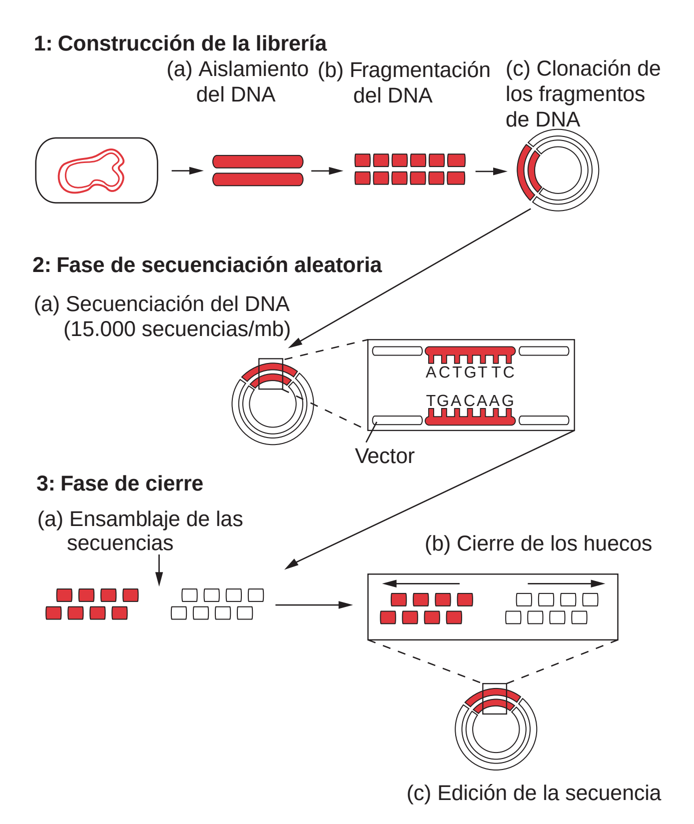
posible. La anotación también puede incluir la identificación de los elementos reguladores de un gen como promotor y potenciador de secuencias.

Genomas seleccionados secuenciados hasta la actualidad

De los millones de bacterias diferentes que han sido identificadas, ¿cuáles son de interés primordial para los investigadores del genoma microbiano? Como se puede ver en la Tabla 5.3, los genomas bacterianos que han recibido más atención son los de los microbios responsables de enfermedades graves y enfermedades de los seres humanos. Por ejemplo, hace poco se completó el genoma del *Pseudomonas aeruginosa,* un patógeno humano muy importante que causa infecciones del tracto urinario, muchas infecciones cutáneas e infecciones persistentes de los pulmones, que son la causa de muerte más significativa de los pacientes con fibrosis quística. *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria particularmente problemática, ya que es resistente a muchos antibióticos y desinfectantes usados habitualmente para tratar otros microbios. Aprender más sobre los genes implicados en el metabolismo, la replicación y la disgregación de componentes (como los antibióticos) de *P. aeruginosa* será de gran ayuda para entender su genoma.

Otro de los microbios elegidos para realizar estudios genómicos fue el *Vibrio cholerae,* que vive en aguas contaminadas de lugares del mundo que no disponen de acceso a la sanidad. Esta bacteria es la causante del **cólera,** que provoca intensas diarreas y vómitos, y que ocasiona una pérdida de líquidos que puede causar *shock* y en ocasiones hasta la muerte. Muchas de las cepas de *V. cholerae* resistentes a los antibióticos están causando problemas recurrentes en Asia, la India, América latina y en algunas zonas de la Costa del Golfo de los Estados Unidos. Entender el genoma de *V. cholerae* ayudará a los científicos a identificar genes toxinas, genes resistentes a los antibióticos y otros genes que pondrán a nuestra disposición otros métodos, además de los actuales, para combatir este microbio. Los biólogos genetistas también se están centrando en los microorganismos que se pueden utilizar como armas biológicas en un ataque terrorista. En la Sección 5.7 hablaremos de cómo y por qué los microbios se pueden usar como armas biológicas y también de lo que podemos aprender estudiando sus genomas.

También se han completado los genomas de un gran número de bacterias importantes para fabricar alimentos. Por ejemplo, los científicos han secuenciado recientemente el genoma del *Lactococcus lactis,* una cepa muy importante en la fabricación del queso. Entender los genomas del *L. lactis* y otras cepas permitirá grandes avances en el campo de la biotecnología alimentaria.



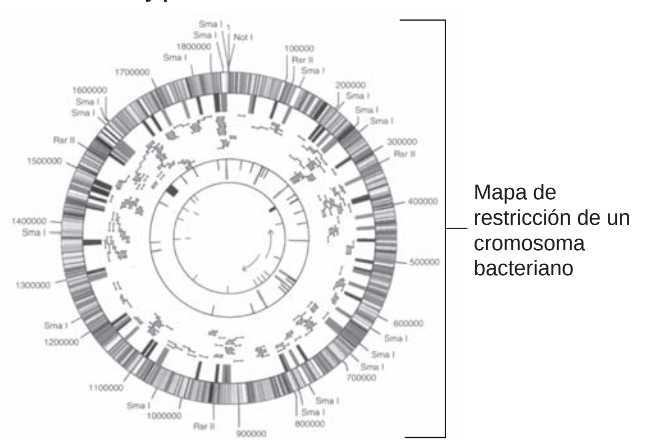


Figura 5.15 Secuenciación aleatoria de genomas microbianos La mayoría de los genomas microbianos han sido secuenciados gracias a la preparación de DNA complementario o librerías de DNA genómico, secuenciando aleatoriamente los clones de DNA de la librería y ensamblando posteriormente las secuencias solapadas para crear un mapa de un cromosoma bacteriano.

Sorcerer II: cruzando la tierra para secuenciar genomas microbianos

La **genómica medioambiental,** también llamada **metagenómica,** comprende el secuenciado de los genomas de comunidades enteras de microbios que se encuentran en muestras de agua, aire y suelos de los océanos de todo el mundo, glaciares, minas (en cualquier rincón del mundo prácticamente). J. Craig Venter, pionero del genoma humano, dejó Celera en 2003 para formar el Instituto J. Craig Venter, y ha desempeñado un papel esencial para establecer el campo de la genómica medioambiental. Una de las principales iniciativas del Instituto incluye una expedición global para recoger muestras de microorga-

Tabla 5.3 GENOMAS MICROBIANOS SELECCIONADOS

Bacteria	Enfermedad humana	Tamaño aproximado del genoma (en megabases, mB)	Número aproximado de genes
Bacillus anthracis	Carbunco	5,23	5.000
Borrelia burgdorferi	Enfermedad de Lyme	1,44	853
Chlamydia trachomatis	Infecciones en los ojos, infecciones del tracto genitourinario (p. ej., inflamación pélvica)	1,04	896
Escherichia coli 0157:H7	Enfermedad severa de origen alimentario (diarrea)	4,10	5.283
Haemophilus influenzae	Infecciones graves en niños (infecciones de ojos, garganta y oído, meningitis)	1,83	1.746
Helicobacter pylori	Úlceras gástricas o de estómago	1,66	1.590
Listeria monocytogenes	Listeriosis (enfermedad grave alimentaria)	2,94	2.853
Mycobacterium tuberculosis	Tuberculosis	4,41	3.974
Neisseria meningitidis (MC58)	Meningitis e infecciones de la sangre	2,27	2.158
Pseudomonas aeruginosa	Neumonía, infecciones crónicas de los pulmones	6,30	5.570
Rickettsia conorii	Fiebre mediterránea botonosa	1,30	1.374
Rickettsia prowazekii	Tifus	1,11	834
Streptococcus pneumoniae	Infección respiratoria aguda o de corta duración	2,16	2.236
Vibrio cholerae	Cólera (enfermedad diarreica)	4,00	3.885
Yersinia pestis	Peste	4,65	4.012

Fuentes: Sawyer, T.K. (2001). Genes to Drugs. *Biotechniques* 30 (1): 164-168. TIGR Microbial Database (www.tigr.org/tdb/mdb/mdbcomplete) y Gold: Genomes OnLine Database (wit.integratedgenomics.com/GOLD).

nismos marinos y terrestres de todo el mundo y secuenciar sus genomas. Al frente de la expedición Sorcerer II, Venter y sus investigadores están haciendo un viaje en barco por todo el mundo que ha sido descrito como la versión moderna de las famosas travesías de Charles Darwin a bordo del HMS *Beagle.* Incluso la cadena de televisión Discovery Channel ha realizado una crónica de este viaje.

Un estudio piloto llevado a cabo por el instituto en el mar de los Sargazos, fuera del límite de las Bermudas, tuvo como resultado el descubrimiento de unas 1.800 nuevas especies de microorganismos y alrededor de 1,2 millones de secuencias de DNA novedosas. Las muestras de agua de diferentes capas de la columna de agua se pasan por filtros de alta densidad de diferentes tamaños para ir quitando los microbios. El DNA es entonces aislado de los microbios y usado para la clonación aleatoria y el secuenciado con la ayuda de secuenciadores automáticos computarizados a bordo que funcionan casi las 24 horas del día. Esta expedición es muy optimista sobre sus posibilidades para identificar nuevos microbios y genes con funciones novedosas, incluyendo genes de utilidad para el comercio. Por ejemplo, el proyecto del mar de los Sargazos identificó cientos de genes fotorreceptores. Algunos de los microorganismos cuentan con fotorreceptores para captar la energía de la luz para favorecer la fotosíntesis. Los científicos están interesados en aprender más sobre los fotorreceptores para desarrollar más formas de utilizar la fotosíntesis para producir hidrógeno que sirva de combustible. Los investigadores médicos también están muy interesados en los fotorreceptores porque tanto los seres humanos como otras especies tienen fotorreceptores en los ojos que son los responsables de la visión. A principios de 2007, la expedición Sorcerer II ya había secuenciado aproximadamente 6.000 millones de pares de bases (pb) de DNA procedentes de más de 400 especies microbianas desconocidas. Estas secuencias contenían 7,7 millones de secuencias previamente desconocidas que codificaban más de 6 millones diferentes de proteínas potenciales.

Tabla 5.4 EJEMPLOS DE GENOMAS VIRALES IMPORTANTES DESDE EL PUNTO DE VISTA MÉDICO QUE HAN SIDO SECUENCIADOS

Virus	Enfermedades humanas	Año de secuenciado
Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV)	Síndrome respiratorio agudo severo (SARS)	2003
Rhinovirus	Catarro	1984
Virus Ébola	Fiebre hemorrágica del Ébola	1993
Virus de la hepatitis A	Hepatitis A	1987
Virus de la hepatitis B	Hepatitis B	1984
Virus de la hepatitis C	Hepatitis C	1990
Virus del herpes simple o de tipo 1	Calenturas	1988
Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1)	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida)	1985
Virus del papiloma humano	Cáncer cervical	1985
Virus de la polio humana	Poliomielitis	1981
Virus de la viruela	Viruela	1992

Genomas virales

El estudio de los genomas virales es otro área de investigación de plena actualidad (Tabla 5.4). Esto es cierto en parte, ya que muchos virus dañinos mutan rápidamente como respuesta a la vacuna y a los tratamientos antivirales. Los medicamentos antivirales han sido concebidos para trabajar de varias formas. Algunos bloquean los virus uniéndose a la superficie de las células e infectándolas, otros bloquean la replicación viral después de que el virus haya infectado las células corporales. Trabajar en todos estos genomas ayudará a los científicos a aprender cómo los virus causan enfermedades y a desarrollar nuevos y eficaces medicamentos antivirales. Por ejemplo, si el genoma revela que se necesita una proteína concreta para la replicación del virus, los científicos pueden diseñar medicamentos que interfieran específicamente en la función de esa proteína para bloquear la replicación viral. En el próximo apartado describiremos brevemente cómo se puede utilizar la biotecnología para detectar microbios por numerosos motivos.

Ensamblaje de genomas para producir virus hechos por los humanos

Unos investigadores de la Universidad Stony Brook de Nueva York fueron portada del periódico cuando ensamblaron aproximadamente 7.500 pares de bases de secuencias de DNA producidas de forma sintética que fueron usadas para sintetizar proteínas y lípidos que se ensamblaron para recrear el virus de la polio, el primer virus creado de esta forma. Poco después de la publicación de este trabajo, otro grupo sintetizó un bacteriófago usando una estrategia similar, y poniendo en marcha experimentos para hacer lo mismo con los genomas bacterianos. Estos experimentos en los que los genomas fueron ensamblados para producir un virus funcional dieron como resultado numerosas reacciones. No fue una sorpresa que el miedo creciera, ya que los bioterroristas podían usar las mismas estrategias para crear de nuevo virus como la viruela o el Ébola (en la siguiente sección sobre bioterrorismo podrás leer más sobre estas armas biológicas). Algunos científicos se han mostrado muy receptivos ante esta nueva era de biología «sintética» y su contribución para entender cómo actúan los genes para construir un organismo. ¿Y tú qué opinas?

5.6 Diagnósticos microbianos

Hemos visto en repetidas ocasiones que los microorganismos son responsables de muchas enfermedades que afectan a seres humanos, mascotas y a cultivos importantes desde el punto de vista agrícola. Los avances recientes en el terreno de la microbiología molecular han permitido a los microbiólogos usar gran variedad de técnicas moleculares para detectar y rastrear microbios, una estrategia llamada **diagnóstico microbiano.**

Estrategias de detección de bacterias

Estudios recientes sugieren que tanto los microbios bacterianos como virales pueden estar implicados en las enfermedades cardiovasculares y en las enfermedades respiratorias crónicas como el asma. El paso más importante para desarrollar estrategias de tratamiento de estas enfermedades es el seguimiento de estos microbios para

saber qué organismos están causando las enfermedades y para identificar los patógenos en el ámbito clínico cuando una persona padece una enfermedad.

Antes de que nacieran las técnicas de biología molecular, los microbiólogos dependían de los tests bioquímicos y los cultivos de bacterias en diferentes medios para identificar las cepas de bacterias que causaban enfermedades. Por ejemplo, cuando los doctores extraen un cultivo de la garganta usan una muestra de bacterias procedentes de tu garganta para comprobar la presencia del *Streptococcus pyogens,* una bacteria que causa la infección de garganta por estreptococos. Aunque estas técnicas y otras similares ocupan todavía un lugar de importancia en los diagnósticos microbianos, las técnicas de biología molecular permiten detectar rápidamente las bacterias y los virus con gran precisión. Las técnicas moleculares como el análisis de polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), la PCR y la secuenciación

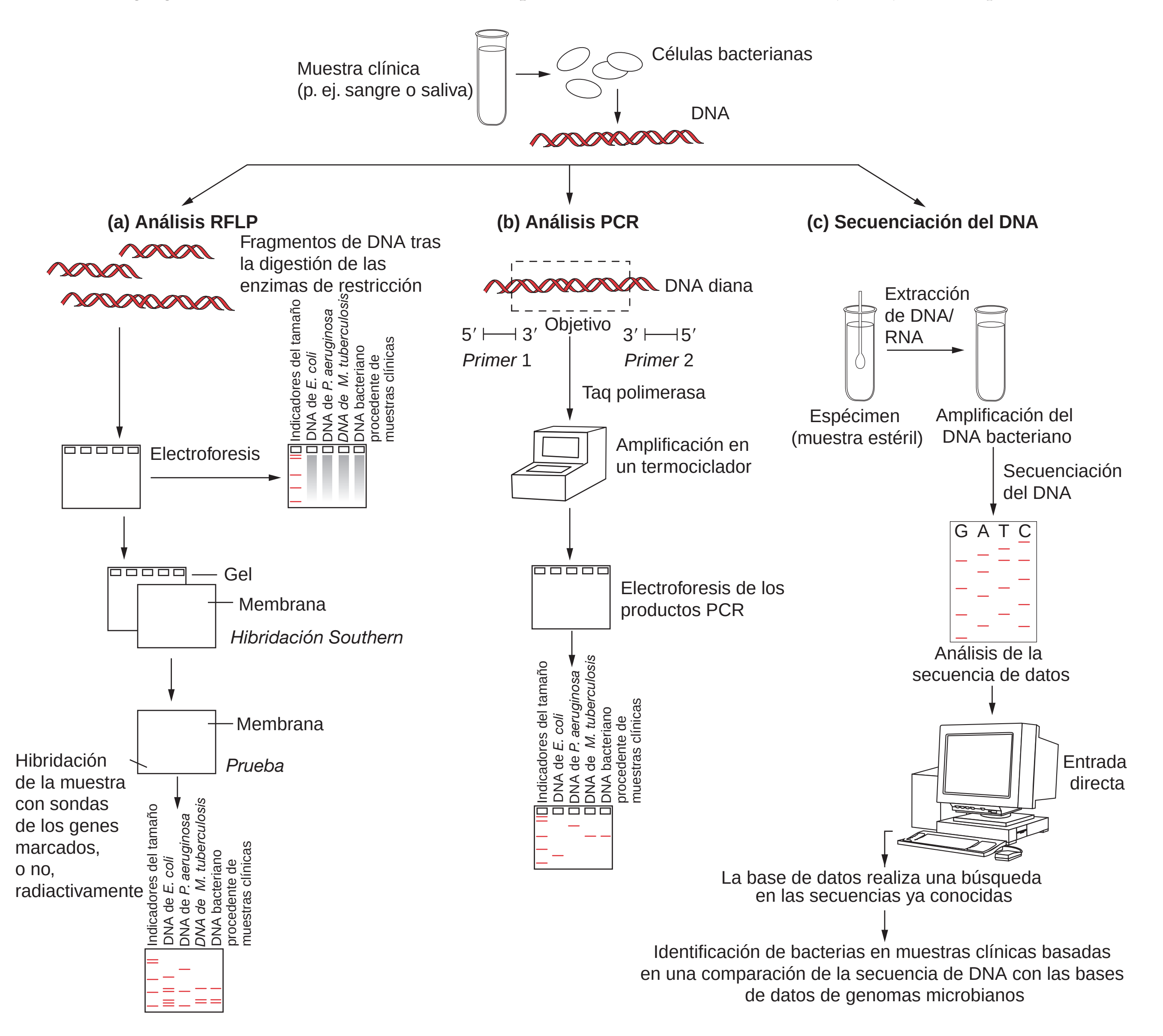


Figura 5.16 Uso de las técnicas moleculares para identificar bacterias Existen muchas técnicas moleculares para identificar las bacterias. (a) La RFLP es una de ellas. Para algunos patógenos, el DNA aislado (que puede proceder de una muestra clínica de sangre o saliva) puede ser sometido a la digestión con enzimas de restricción y a la separación por medio de electroforesis en gel de agarosa. Los patrones de bandas de fragmentos de DNA pueden compararse con las cepas de referencia de bacterias ya conocidas para permitir una identificación positiva. En este ejemplo, el DNA bacteriano aislado de la muestra clínica corresponde con el de *P. aeruginosa*. (b) La PCR también se puede usar para la identificación bacteriana. Ésta cuenta con la ventaja de ser mucho más precisa que los análisis de la RFLP. Por tanto, se necesita solamente una pequeña cantidad de muestras clínicas y pequeñas cantidades de DNA. La precisión de la PCR hace también posible la identificación de pequeñas cantidades de DNA procedentes de unas pocas células, teniendo en cuenta el tratamiento anticipado para una infección. (c) Las estrategias de secuenciación del DNA también se emplean habitualmente para la identificación microbiana.

del DNA de los cuales hablamos en el Capítulo 3, pueden usarse para identificar bacterias (Figura 5.16). Si el genoma del patógeno es amplio y produce demasiados fragmentos de restricción enzimática, que impiden visualizar grupos individuales de DNA en gel de agarosa, el DNA puede ser sometido a un análisis de *Southern blot* (Figura 5.16).

Hay muchas bases de datos de RFLP, patrones de PCR y secuencias de DNA bacteriano disponibles para comparar muestras clínicas. Por ejemplo, si un médico sospecha que puede haber una infección bacteriana o vírica, las muestras de sangre, saliva, heces y líquido cefalorraquídeo del paciente pueden usarse para aislar los patógenos bacterianos y virales. El DNA del patógeno sospechoso es entonces aislado y sometido a técnicas moleculares como la PCR (Figura 5.16). La PCR es una herramienta importante para las pruebas diagnósticas en laboratorios de microbiología clínica y ampliamente utilizada para diagnosticar infecciones causadas por microbios como los virus de la hepatitis A, B y C, *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* (los cuales causan enfermedades de transmisión sexual), el HIV-1 y muchas otras bacterias y virus.

Tras la pista de microorganismos causantes de enfermedades

Los científicos emplean técnicas de biología molecular para llevar a cabo un seguimiento de los patrones de microbios causantes de enfermedades y de los brotes de enfermedades que pueden causar. Los microbios desempeñan un papel muy importante en la producción de leche y sus derivados. Recuerda que algunas bacterias llevan a cabo reacciones absolutamente esenciales para fabricar yogures y quesos. Pero la leche y sus derivados son también susceptibles de ser contaminados por microorganismos patógenos. La información sobre los microbios de la leche se puede utilizar, asimismo, para determinar la calidad de la leche y su deterioro.

La contaminación bacteriana de los alimentos es un problema importante en todo el mundo. Por ejemplo, seguro que has oído hablar de la bacteria *Salmonella,* que contamina la carne de vaca, de ave y los huevos. La *Salmonella* puede infectar el aparato digestivo humano causando graves diarreas y vómitos, síntomas llamados habitualmente intoxicación alimenticia. Los investigadores están experimentando con técnicas de DNA y estrategias con anticuerpos para detectar los microbios que provocan el deterioro de los alimentos, como es el caso de la *Salmonella.* Por ejemplo, un alimento o una muestra de líquido pueden incubarse con anticuerpos que contienen colorantes unidos a microesferas de vidrio, y posteriormente se pueden emplear estrategias de detección de quimioluminiscencia para determinar si los anticuerpos se han unido a los microbios de la muestra de comida sometida a la prueba experimental. Los datos preliminares sugieren que esas técnicas constituirían una estrategia más precisa para detectar los microbios en carnes, frutas, verduras, zumos y muchos otros productos. Tras responder con éxito al brote de carne contaminada por *E. coli* en 1993, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) decidieron establecer una red de trabajo de laboratorios que detecten el DNA para extender su cobertura y mejorar su respuesta. Los CDC y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos desarrollaron una red de cooperación entre laboratorios llamada **PulseNet,** que permite a los biólogos identificar rápidamente los microbios que están implicados en la protección de la salud pública usando aproximaciones de huella de DNA. Los resultados pueden compararse con una base de datos para identificar los brotes de microbios en alimentos contaminados y decidir cómo responder para evitar que afecte a la población.

Cada año en Estados Unidos tienen lugar 76 millones de casos de enfermedades causadas por alimentos en mal estado debidas a los microbios, causando unas 300.000 hospitalizaciones y alrededor de 5.000 muertes. Solo en Estados Unidos la cepa O157:H7 de *E. coli* causa alrededor de 20.000 casos de intoxicaciones alimentarias cada año. Esta cepa infecciosa es letal. PulseNet está controlando actualmente *E. coli* O157, *Salmonella, Shigella* y *Listeria,* y pronto será capaz de controlar enfermedades que nada tienen que ver con la contaminación de alimentos, como es el caso de la tuberculosis. Ha sido particularmente difícil hacer un seguimiento de la tuberculosis, especialmente cuando empezaron a aparecer cepas resistentes en China, Rusia e India. Se estima que un tercio de la población mundial es portador de la bacteria de la tuberculosis, pero solamente un 5 o un 10 por ciento mostrará síntomas de infección. Las mejoras en la detección pueden ser la solución a corto plazo hasta que se sepa por qué y cómo permanece latente la enfermedad.

Los microchips tras la pista de enfermedades contagiosas

Los microchips o micromatrices han dado lugar a una cantidad enorme de nuevas estrategias para detectar e identificar patógenos y para identificar las respuestas de los huéspedes ante una enfermedad infecciosa. Por ejemplo, la empresa pionera en la fabricación de microchips, Affymetrics Inc., ha desarrollado el SARS-CoV GeneChip, que contiene aproximadamente 30.000 sondas que representan el genoma viral completo del coronavirus, causante del **síndrome respiratorio agudo severo (SARS).** El virus SARS es un virus que se contagia muy fácilmente por vía respiratoria y que ha infectado aproximadamente a 9.000 personas y matado alrededor de 900 desde que se detectó por vez primera en noviembre del 2002. Desarrollar una vacuna contra el SARS-CoV es otra prioridad, pero hasta que eso ocurra los científicos están usando microchips de gran precisión para detectar el virus. Algunos chips similares se utilizan para detectar la cepa H5N1 de la gripe, de la cual hablamos en el apartado anterior.

Los microchips también se emplean para estudiar cambios en la expresión génica que tienen lugar cuando un organismo es infectado por un patógeno (Figura 5.17), proporcionando una «firma» de infección de un orga-

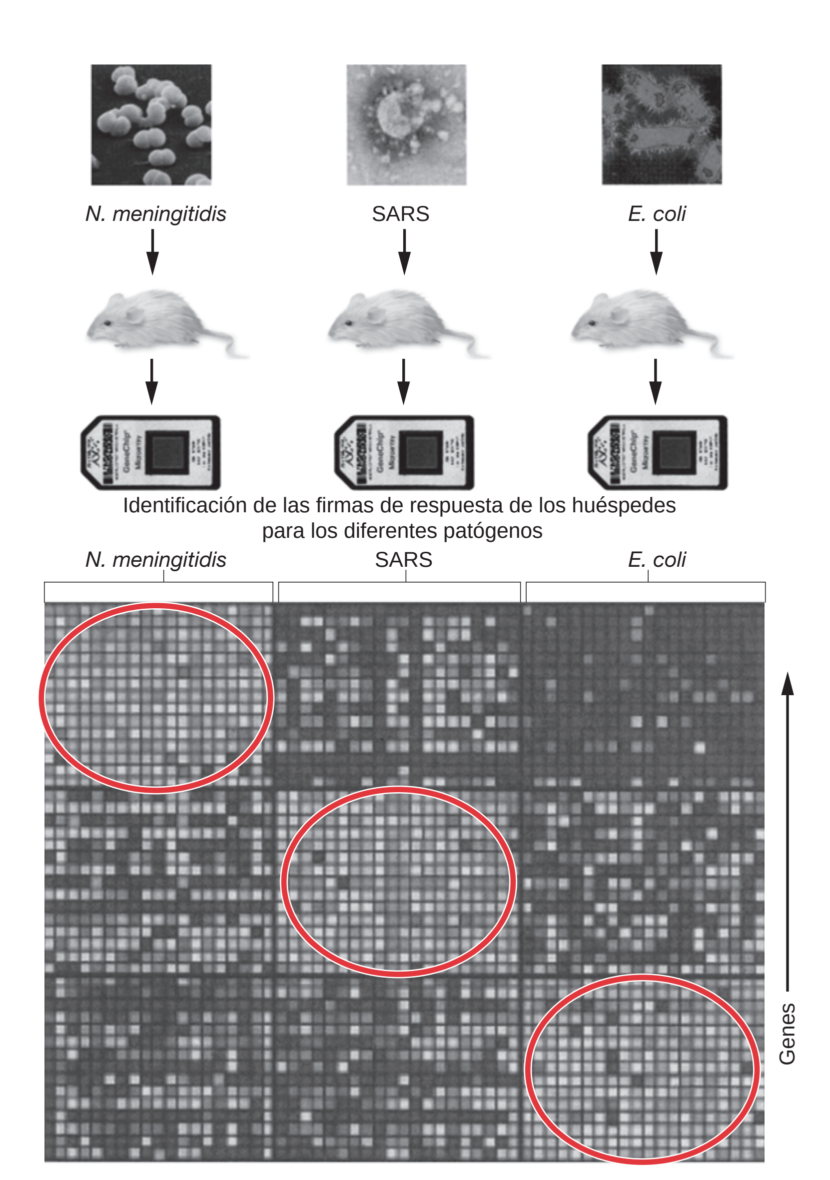


Figura 5.17 Firmas de respuestas de expresión génica de los huéspedes para la identificación de patógenos En este modelo animal, los ratones fueron infectados con *Neisseria meningitidis,* la bacteria que causa la meningitis, con SARS, y con *E. coli,* y el análisis fue llevado a cabo para examinar cambios en la expresión de genes siguiendo la infección de cada patógeno. En este ejemplo vemos que los genes expresados activamente se representan con puntitos de luz. Observa cómo cada patógeno activa un subconjunto específico de genes (rodeado) creando una «firma» de expresión de genes que los investigadores pueden usar para identificar el patógeno infectante.

nismo particular. Con estos chips, los patrones de genes que son estimulados o inhibidos por un patógeno se pueden analizar como una firma distintiva y única de ese patógeno particular. Observa cómo los tres patógenos de la Figura 5.17 estimulan diferentes grupos de genes en los ratones. En el próximo apartado veremos a grandes rasgos los agentes biológicos que pueden suponer una amenaza si se utilizan como armas, y hablaremos de cómo la biotecnología puede utilizarse para detectar y combatir el bioterrorismo.

5.7 Combatir el bioterrorismo

Los trágicos acontecimientos del 11 de septiembre del 2001 han supuesto el mayor atentado llevado a cabo por terroristas en suelo americano. En las semanas posteriores a esta horrible tragedia, Estados Unidos y el mundo entero conocieron mejor la amenaza del bioterrorismo cuando dos senadores, otros legisladores y algunos miembros de la prensa recibieron cartas contaminadas que contenían un polvo de esporas de la bacteria *Bacillus anthracis.* Las proteínas tóxicas de *B. anthracis* causan importantes daños a las células de la piel, al aparato respiratorio y al tracto gastrointestinal dependiendo de la exposición al microbio. Como resultado de esta exposición al ántrax, 5 personas murieron y otras 22 cayeron enfermas. Estos acontecimientos hicieron que fuéramos más conscientes de que las actividades de los terroristas biológicos podrían causar un daño devastador si se utilizaran agentes biológicos en grandes cantidades. El **bioterrorismo** se define en términos generales como el uso de materiales biológicos como armas para hacer daño al ser humano, o a los animales y plantas de los cuales dependemos para alimentarnos. La biotecnología, por definición, tiene como objetivo mejorar la calidad de vida del ser humano y de otros organismos. Por desgracia, el bioterrorismo representa un uso y abuso extremo de los organismos vivos.

El bioterrorismo ha sido una preocupación legítima durante siglos. En el siglo XIV, los cuerpos de las víctimas de la peste bubónica se utilizaron para extender la bacteria *Yersinia pestis,* que causó la epidemia de peste bubónica durante las guerras en Rusia y otros países. Esto, posteriormente, repercutió en la epidemia de peste negra en Europa. Los primeros europeos que se establecieron en el Nuevo mundo transmitieron el sarampión, la viruela y la gripe a los nativos americanos. Aunque la llegada de estas enfermedades no fue un hecho intencionado, causó la muerte de cientos de miles de nativos americanos dado que éstos no estaban inmunizados frente a esos patógenos. Entre 1990 y 1995, los aerosoles de toxinas procedentes de la bacteria *Clostridium botulinum* fueron esparcidos por sitios muy poblados en el centro de Tokyo (Japón) sin que hubiera infección alguna tras estas pruebas. En las últimas décadas en todo el mundo ha habido muchos otros incidentes menos conocidos y sin éxito, afortunadamente.

Microbios usados como armas biológicas

Las nuevas cepas de patógenos infecciosos y potencialmente mortales están evolucionando todos los días a lo largo y ancho del mundo. La amenaza que representan estos microorganismos causantes de enfermedades, que podían ser utilizados como **armas biológicas** de destrucción masiva, puede hacer que nos imaginemos una novela de ciencia ficción. Sin embargo, el potencial de un ataque bioterrorista es real y es una preocupación importante.

A pesar de que se podrían utilizar como armas biológicas cientos de organismos que infectan al ser humano, la mayoría de los expertos creen que solamente doce de esos organismos podrían ser cultivados, refinados y usados en bioterrorismo de forma factible (Tabla 5.5). Estos agentes incluyen bacterias como *Bacillus anthracis,* el bacilo Gram positivo que causa el carbunco y virus mortales como la viruela y el Ébola (Figura 5.18). La posibilidad de que se empleen organismos desconocidos como armas biológicas es inquietante, ya que probablemente sería muy difícil detectarlos y neutralizarlos. Sin embargo, un microbio no muy conocido es difícil que pueda ser utilizado como arma biológica.

Es importante tener en cuenta que la viruela (enfermedad causada por el virus de la viruela) puede ser también un arma biológica de la que preocuparse por varios motivos. Casi todos los humanos son susceptibles de contraer la viruela dado que la vacunación en masa dejó de hacerse hace 20 años. En aquel momento, cuando se confirmó el último caso de viruela, la OMS declaró la enfermedad erradicada en todo el mundo gracias a las campañas de vacunación. Sin embargo, los recientes brotes de una cepa de viruela del mono pueden hacer que la viruela vuelva a ser un tema de preocupación.

Tabla 5.5 ARMAS BIOLÓGICAS POTENCIALES

Agente	Amenaza de enfermedad y síntomas más comunes
Bacillus anthracis (bacteria)	Carbunco. La forma cutánea produce lesiones en la superficie de la piel, que por lo general disponen de tratamiento. La inhalación del ántrax produce inicialmente síntomas parecidos a los de la gripe que derivan en neumonía pulmonar que puede ser mortal.
Brucella (bacteria)	Las diferentes cepas de *Brucella* infectan al ganado vacuno y bovino. Puede producir brucelosis en animales y humanos. Los síntomas más comunes son fiebre prolongada y aletargamiento. Puede ser amenazante o no para la vida.
Clostridium botulinum (bacteria)	El botulismo se debe a la ingestión de comida contaminada por *C. botulinum* o sus toxinas. También son comunes varios grados de parálisis del sistema muscular provocado por las toxinas del botulinum. Una parálisis respiratoria o un paro cardiaco pueden ser a menudo la causa de la muerte.
Francisella tularensis (bacteria)	La tularemia es una inflamación de los pulmones que puede causar un fallo respiratorio, seguido de un *shock* y posteriormente la muerte.
Rickettsia (varias cepas de bacterias)	Las diferentes cepas causan enfermedades como la fiebre maculosa de las Montañas Rocosas y el tifus.
Virus Ébola o virus de Marburgo	Ambos son virus enormemente virulentos que causan fiebre hemorrágica. Los síntomas son fiebre alta, dolor muscular y articular, y alteraciones hemorrágicas.
Virus de la gripe (un grupo muy amplio y contagioso)	Gripe. Dependiendo de la cepa del virus, la gravedad y las consecuencias serán mayores o menores.
Virus de la viruela	Viruela. Enfriamiento, fiebre alta, dolor de espalda, dolor de cabeza y lesiones cutáneas.
Yersinia pestis (bacteria)	Peste «negra». Fiebre alta, dolor de cabeza, hinchazón dolorosa de los nódulos linfáticos, *shocks*, colapso circulatorio, fallo multiorgánico y muerte unos días después de la infección en la mayoría de los casos.

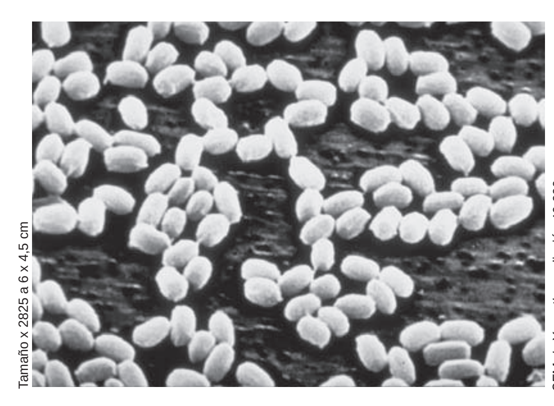




Figura 5.18 Microbios mortales usados como armas biológicas Las armas biológicas potenciales pueden incluir los organismos causantes del carbunco (*Bacillus anthracis,* a la izquierda) y la peste (*Yersinia pestis,* a la derecha).

Tras seguir de cerca los acontecimientos relacionados con el carbunco en el 2001, tomando como punto de partida la preocupación derivada del uso de la viruela como arma biológica, el gobierno de Estados Unidos comenzó a trabajar con compañías biotecnológicas para producir a gran escala vacunas contra la viruela.



TÚ DECIDES

¿Crees que las secuencias genómicas de los patógenos deberían estar presentes en bases de datos públicas?

La ciencia como proceso confía en que los científicos compartan datos e información por medio de conferencias, publicaciones y recursos web como las bases de datos. Ahora que se ha completado el genoma de muchos patógenos humanos como los que causan el cólera, el carbunco, la meningitis y la viruela, ha habido un debate importante sobre si las secuencias genómicas de algunos microbios susceptibles de ser armas biológicas deberían estar disponibles en bases de datos de DNA públicas. Los informes de los medios de comunicación sobre este tema han hecho crecer la preocupación de que los terroristas podrían usar esos datos de secuenciación para generar proteínas recombinantes para toxinas patógenas como forma de producir armas biológicas. Otros han sugerido que los terroristas podrían usar los datos de los genomas para inventar patógenos «súper armas» más eficaces y resistentes a las vacunas y a los medicamentos ya existentes. Sin embargo, muchos científicos genetistas están a favor de dejar las secuencias de los patógenos en bases de datos públicas al resaltar la importancia que tiene el poder acceder libremente a la información y al afirmar que hay tanto que no comprendemos sobre los genomas de esos patógenos que no plantea ninguna amenaza contra la salud humana el hecho de que sus secuencias estén disponibles. ¿Tú qué opinas? ¿Deberían las secuencias de los genomas depatógenos estar presentes en bases de datos públicas? Tú decides.

Objetivos del bioterrorismo

Los expertos en antibioterrorismo creen que el objetivo de los bioterroristas son las ciudades o acontecimientos en los que haya un gran número de personas. Sin embargo, estos especialistas han tenido poca suerte a la hora de predecir dónde y cómo tendrán lugar estos actos. Como mucho, podemos especular sobre las diferentes formas posibles de lanzar un arma biológica para herir o matar a seres humanos. Los bioterroristas tienden más bien a usar un número limitado de estrategias para acabar lo antes posible y con resultados eficaces. Lo más común es que los agentes sean propagados por medio de un aerosol en el cual las pequeñas partículas del arma biológica se esparcen por el aire para ser inhaladas. El aerosol puede crearse pulverizando el arma biológica en finos polvos y producir una «bomba silenciosa» que suelte una nube tóxica. Esta nube de aerosol sería como un gas, incoloro, inodoro e insípido. Un ataque tan silencioso podría pasar desapercibido durante varios días. Tras la exposición a un agente biológico, en los días siguientes al ataque, algunas personas pueden desarrollar síntomas prematuros, que los médicos pueden diagnosticar mal, u otros síntomas que pueden asemejarse a los de una enfermedad más común. Mientras tanto, si el agente biológico se traspasa de un humano a otro, muchas personas de otras regiones e incluso de otros países podrán ser infectadas mientras los individuos infectados viajen de un lugar a otro y transmiten su enfermedad. Los expertos en antibioterrorismo también sospechan que los agentes biológicos pueden ser soltados por aviones fumigadores o diseminados en el suministro de agua.

Además de la amenaza directa al hombre, es también una preocupación para los expertos prevenir los ataques con armas biológicas que podrían causar un daño grave a las cosechas, a la comida animal y a otros alimentos (véase la Tabla 5.6). Un ataque como éste no sólo afectaría a la salud de los seres humanos, sino que podría también paralizar la economía agrícola de un país si la comida animal proveniente de las vacas, por ejemplo, resultara infectada. Si existiera una preocupación generalizada sobre la calidad de la carne y la leche, muchos consumidores se negarían a comprar estos productos por miedo a contaminarse.

Tabla 5.6 PATÓGENOS BIOLÓGICOS POTENCIALES PARA LLEVAR A CABO UN ATAQUE BIOLÓGICO A LAS FUENTES ALIMENTICIAS

Enfermedad	Objetivo/vector	Agente
Enfermedades animales		
Fiebre aftosa	Ganado	Virus de la fiebre aftosa
Virus de la peste porcina africana	Cerdos	Peste porcina africana
Enfermedades de las plantas		
Roya negra de los cereales (hongo)	Avena, cebada y trigo	*Puccinia* spp.
Mancha sureña del maíz (hongo)	Maíz	*Bipolaris maydis*
Anublo del arroz (hongo)	Arroz	*Pyricularia grisea*
Negrón de la patata (hongo)	Patatas	*Phytophthora infestans*
Chancro de los cítricos (bacteria)	Cítricos	*Xanthomonas axonopodis pv. citri*
Zoonosis		
Brucelosis (bacteria)	Ganado	*Brucella melitensis*
Encefalitis japonesa (flavivirus)	Mosquitos	Virus de la encefalitis japonesa
Ántrax cutáneo (bacteria)	Ganado	*Bacillus anthracis*

Fuente: Gilmore, R. (2004): U.S. Food Safety Under Siege? *Nature Biotechnology,* 22: 1503-1504.

Utilización de la biotecnología contra las armas biológicas

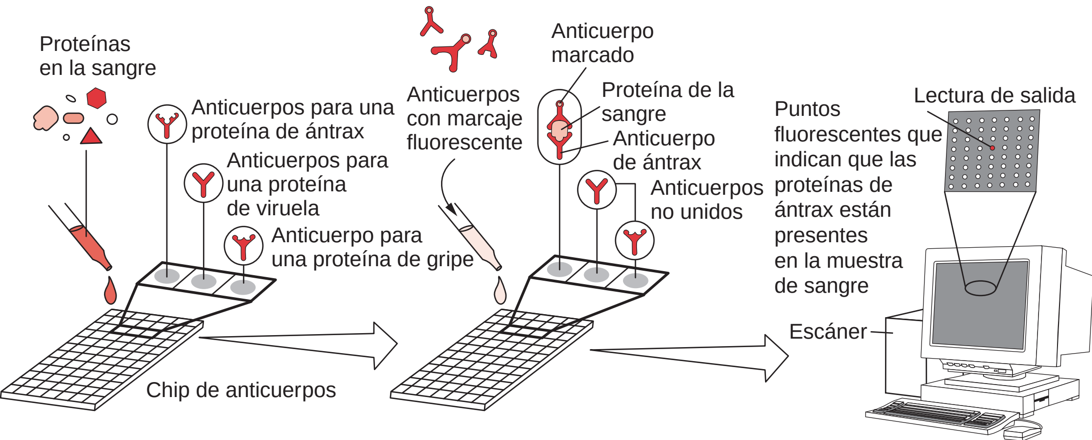
Como era evidente durante los incidentes de carbunco del 2001, Estados Unidos está mal preparado contra un ataque con armas biológicas. Numerosas agencias, incluyendo la Sociedad Americana de Microbiología, el Departamento de Agricultura, los CDC, el Departamento de Salud y Servicios Humanos, y el Congreso han trabajado para desarrollar una legislación que minimice los peligros del bioterrorismo y responda a posibles ataques. Por ejemplo, los avances tecnológicos han permitido al Servicio de correos de Estados Unidos disponer de lo necesario para desinfectar el correo mediante el uso de rayos X o luz ultravioleta.

En 2004, el gobierno federal estadounidense destinó aproximadamente 6.000 millones de dólares para combatir el terrorismo biológico y químico durante unos diez años mediante una iniciativa llamada Proyecto BioShield. El principal objetivo de BioShield es desarrollar y adquirir cantidades considerables de vacunas y medicamentos para tratar y proteger a los estadounidenses de las armas biológicas. Incluso con un aumento de presupuesto, nuevas leyes y tratados internacionales, ninguna medida puede garantizar que el bioterrorismo nunca volverá a tener lugar o que podamos detectar y proteger a la población contra enfermedades que provengan de un ataque de este tipo. Es esencial que se lleven a cabo esfuerzos en todo el mundo para prevenir el bioterrorismo, pero ¿de qué forma la biotecnología puede ayudar a detectar las armas biológicas y responder en caso de ataque?

Las pruebas de campo representan un gran paso a la hora de detectar un ataque. Algunas de estas pruebas requieren tests como el ELISA, que sirve para determinar si los patógenos o alguna otra molécula específica del patógeno están presentes en el aire o en una muestra de agua. Tales unidades fueron dispuestas alrededor del Pentágono durante los momentos de pánico causados por el ántrax en el 2001, la guerra del Golfo y las guerras de Afganistán e Iraq. Estas unidades se quedan en el aire y usan los anticuerpos para detectar los patógenos. Esta técnica es defectuosa porque muchos de estos instrumentos no son muy precisos y no pueden detectar pequeñas cantidades de un patógeno. De hecho, estos sensores son conocidos por detectar microbios inofensivos que viven de forma natural en el medio ambiente. Se han de desarrollar por tanto biosensores nuevos y más precisos.

Las variaciones de los ensayos con proteínas incluyen rápidos inmunoensayos portátiles desarrollados por científicos de la marina y microchips de proteínas usados por los militares para detectar patógenos transportados por el aire como las esporas de ántrax y el virus de la viruela (Figura 5.19). Diseñados para utilizarse en un laboratorio o incluso en rápidos diagnósticos en un trabajo de campo (algunos microchips de campo usan superficies recubiertas de diamante que los hace particularmente duraderos), estos chips detectan el patógeno entero o todos los componentes del patógeno como proteínas o esporas.

Otra estrategia de detección consiste en extraer ácidos nucleicos de muestras del medio ambiente como el aire, el suelo o el agua, además de los fluidos corporales y las muestras de tejido. Entonces la PCR es desarrollada con un amplio repertorio de *primers* específicos para cada patógeno diferente. La PCR puede también ser de mucha ayuda para seguir la pista de la fuente de un ataque bio-



1) Aplicación de sangre de un paciente al chip que contenga anticuerpos asignados a una casilla específica de una rejilla. Cada casilla incluye múltiples copias de un anticuerpo capaces de unirse a una proteína específica de un organismo y por eso representa un agente causante de enfermedad distinto.

2) Aplicación de anticuerpos con marcaje fluorescentes capaces de unirse a un segundo lugar de las proteínas reconocible por los anticuerpos en el chip. Si una proteína procedente de la sangre se ha unido al chip, uno de estos anticuerpos fluorescentes se unirá a esa proteína formando un «sándwich» de anticuerpos.

3) Introducir el chip en un escáner para determinar qué organismos están presentes en el cuerpo del paciente. En este caso, el culpable es *Bacillus anthracis*, la bacteria que causa el carbunco.

Figura 5.19 Microchips de proteínas usados para detectar patógenos de las armas biológicas

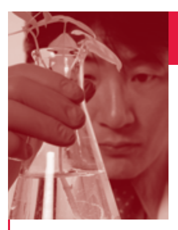
terrorista a partir de una muestra de bacterias comparando el DNA amplificado de un patógeno con otras muestras conocidas para buscar similitudes y diferencias en la secuencia de DNA de las diferentes cepas. El genoma de una cepa de *B. anthracis* ya ha sido secuenciado y se están poniendo en marcha planes para secuenciar el genoma de alrededor 12 cepas diferentes de *B. anthracis* por todo el mundo. Esta información puede ser útil para realizar un seguimiento de las cepas, para atrapar a futuros bioterroristas y para desarrollar medicamentos y vacunas.

Los equipos de emergencia y de limpieza también participarán en la acción para evaluar el alcance de la contaminación y establecer un procedimiento de limpieza que se apoye en la propagación de armas biológicas (Figura 5.20). Si tuviera lugar un ataque se necesitará un tratamiento con medicamentos como los antibióticos. Los países deben disponer de medicamentos y vacunas de reserva que puedan ser distribuidas a gran escala entre grandes grupos de personas si es necesario. El problema principal de las vacunas es que se deben administrar antes de la exposición a las armas biológicas para que sean eficaces, ya que proporcionarlas a los individuos ya infectados tras un ataque es algo inútil. Desde 2001, los CDC han incrementado las reservas de Estados Unidos. También se ha impuesto una vacuna obligatoria a algunos miembros del ejército y se ha llevado a cabo una campaña de vacunación voluntaria para el personal sanitario y aquellas personas que puedan estar en contacto con el virus. Sin embargo, incluso los medicamentos y las vacunas pueden ser ineficaces ante un ataque bioterrorista con organismos modificados genéticamente para ser inmunes a los tratamientos más convencionales, o si un organismo desconocido se utiliza como arma biológica. Por ejemplo, puede que recuerdes que el antibiótico «ciprofloxacina», más conocido como «cipro», fue muy demandado durante las amenazas de carbunco del 2001.



Figura 5.20 Luchando contra el bioterrorismo Arriesgados guardacostas estadounidenses descontaminan a un compañero que acaba de realizar un trabajo en el interior del «Hart Senate Office Building» (Oficina para senadores) para limpiar el edificio de esporas de ántrax durante un ataque de ántrax en 2001. La lucha contra el bioterrorismo requiere un esfuerzo coordinado de muchos grupos diferentes: científicos, físicos y políticos, unidades de emergencia y personal de limpieza.

La cruda realidad es que es posible que en algún lugar del mundo alguien esté trabajando para planear un ataque con armas biológicas. ¿Estaremos preparados para ello? La vulnerabilidad y el dolor de muchos estadouni-



PERFIL PROFESIONAL

La biotecnología microbiana ofrece muchas salidas profesionales

La biotecnología es una industria creciente que comprende un gran número de pequeñas compañías, algunas más grandes (que incluyen compañías farmacéuticas que acaban de acceder al mercado), varias compañías de investigación y de producción por contrato. Estas compañías están desarrollando y manufacturando productos biológicos como proteínas terapéuticas y vacunas, y las aplicaciones microbianas desempeñan un papel muy importante en este proceso. Se requieren muchos grupos para desarrollar y producir medicamentos que la FDA pueda aprobar, incluyendo investigaciones, analíticas, procesos de desarrollo, manufacturas, y grupos de apoyo como es el caso de los controles de calidad.

La investigación en biotecnología microbiana y el desarrollo proporcionan oportunidades a todos los niveles educativos. A pesar de que los estudios superiores permiten acceder a un puesto de mayor categoría, la gente con un título inferior opta a muchos puestos de responsabilidad. Debido a la amplia variedad de productos, las compañías buscan a personas con experiencia en todas las áreas de la biología (biología molecular, bioquímica de proteínas, microbiología, bioingeniería e ingeniería química). Estas personas diseñarán el producto y estudiarán el producto para identificarlo, determinar su eficacia y su potencia. Los biólogos y los ingenieros de estos grupos desarrollarán métodos de producción a pequeña escala que puedan ser usados en la producción a gran escala, como cultivos de microbios recombinantes en fermentadores. La estricta regulación de la industria de la biotecnología exige que el manufacturado sea un proceso muy preciso. Por tanto, se necesita personal con una buena formación que disponga de amplios conocimientos académicos: desde un nivel de educación secundaria hasta un nivel universitario. Las compañías forman por lo general a sus propios trabajadores para que ocupen estos puestos. El personal que se encarga del control de calidad prueba los productos y realiza un test de las muestras para asegurarse de que los productos son fabricados correctamente. Recopilan y prueban diversas muestras que van desde los medios acuosos y de cultivo hasta las materias primas y productos elaborados. Las competencias laborales varían según la formación académica del personal. A menudo las compañías dan una formación a sus trabajadores, pero en el caso de procedimientos analíticos más avanzados los individuos que tienen conocimientos y experiencia previa con métodos bioanalíticos (por ejemplo, cromatografía de líquidos de alta resolución [HPLC], análisis con gel, técnicas de hibridación y PCR) tendrán más ventaja.

El personal que garantiza el control de calidad se encarga de asegurar que los productos se fabrican siguiendo unas pautas estrictas. Examinan el documento del proceso de manufacturado antes y después de que éste se lleve a cabo. No sólo han de estar al día y ser el enlace con la FDA y otras agencias reguladoras, sino también deben ser lo suficientemente cercanas al proceso de producción para ocupar este puesto. Los conocimientos y la comprensión de la microbiología serán de gran ayuda, pero también es esencial tener conocimientos sobre materia legal y regulación, así como saber redactar.

Fuente: Información proporcionada por Daniel B. Rudolph (Ingeniero químico, Lonza Group LTD, Baltimore, MD).

denses se hundió el 11 de septiembre, y los meses siguientes sólo sirvieron para que aumentara el miedo y la preocupación sobre los ataques con agentes biológicos. Pero la vida de aquellos que murieron en aquel trágico y triste día de la historia de Estados Unidos no habrá sido en vano si concienciamos a la población del peligro del bioterrorismo y mejoramos las estrategias para prevenir y hacer desaparecer los ataques con armas biológicas.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. ¿En qué se diferencia la estructura de las células procariotas de la de las eucariotas? Describe al menos tres diferencias estructurales para explicarlo. Propón algunos ejemplos específicos sobre la importancia de las células procariotas en el ámbito de la biotecnología.
2. ¿Sabrías decir en qué se diferencian las levaduras de las bacterias? Describe el papel que desempeñan las levaduras en al menos dos aplicaciones importantes de biotecnología.
3. Discute con tus compañeros cuáles son las tres mejores formas en que las vacunas pueden luchar contra un virus o una bacteria, y describe cómo funciona cada una.
4. ¿Por qué los microbios anaeróbicos son importantes para fabricar alimentos?
5. Si tu trabajo fuera proteger a la población de un ataque bioterrorista, ¿qué estrategias de biotecnología considerarías para observar los agentes infecciosos? ¿Crees que la vacuna contra las armas biológicas, como por ejemplo el virus *Variola vaccinia* causante de la viruela, debería ser obligatoria para todo el mundo incluso si ésta puede presentar efectos secundarios que puedan amenazar la vida de las personas?

6. ¿De qué forma pueden utilizarse en biotecnología microbiana los conocimientos adquiridos al estudiar los genomas microbianos? Cita tres ejemplos.
7. Realiza una búsqueda en las páginas web de la FDA (http://www.fda.gov/) y los CDC (http://www.cdc.gov/) para averiguar lo siguiente: (1) ¿Cuáles son las cepas de la gripe que han sido autorizadas para desarrollar una vacuna para este año? (2) ¿Qué compañías tienen la aprobación para fabricar la vacuna? (3) ¿Cuántas dosis se prepararán?
8. La gente se ha acostumbrado a que la vacunen contra los patógenos de enfermedades como el sarampión y la polio. Sin embargo, hay Estados que están trabajando para que se apruebe la administración a todos los adolescentes del Gardasil, una vacuna contra el virus del papiloma humano que, como todos sabemos, se transmite mediante relaciones sexuales. ¿Qué opinas de esta proposición? ¿Crees que el Gardasil debería ser obligatorio? ¿Qué da a entender esta proposición sobre la actividad sexual de los jóvenes?
9. ¿Qué es una proteína de fusión? ¿Cómo puede usarse para aislar una proteína recombinante de interés?
10. Cita tres proteínas terapéuticas recombinantes que produzcan las bacterias y explica para qué se usan.

Bibliografía y lecturas complementarias

Broadbent, J. R., and Steele, J. L. (2005). Cheese Flavor and the Genomics of Lactic Acid Bacteria. *ASM News,* 71: 121–128.

Gilmore, R. (2004). U.S. Food Safety Under Siege? *Nature Biotechnology,* 22: 1503–1504.

Goodwin, S., and Phillis, R. W. (2003). *Biological Terrorism.* M. A. Palladino, Ed. San Francisco: Benjamin Cummings.

Hill, S. A. (2006). *Emerging Infectious Diseases.* M. A. Palladino, Ed. San Francisco: Benjamin Cummings.

Tortora, G. J., Funke, B. R., and Case, C. L. (2006). *Microbiology: An Introduction, 9e.* San Francisco: Benjamin Cummings.

Ulmer, J. B., Valley, U., and Rappuoli, R. (2006). Vaccine Manufacturing: Challenges and Solutions. *Nature Biotechnology,* 24: 1377–1383.

Venter, J. C., Remington, K., Heidelberg, J. F., et al. (2004). Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea. *Science,* 304: 66–74.

Wein, L. M., and Liu, Y. (2005). Analyzing a Bioterror Attack on the Food Supply: The Case of Botulinum Toxin in Milk. *Proceedings of the National Academy of Science,* 102: 9984–9989.

Wessner, D. R. (2006). *HIV and AIDS.* M. A. Palladino, Ed. San Francisco: Benjamin Cummings.

Young, J. A., and Collier, R. J. (2002). Attacking Anthrax. *Scientific American,* 286: 48–59.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo **6**

Biotecnología vegetal

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Describir el impacto de la biotecnología en el sector agrícola.
- Explicar las limitaciones de las técnicas convencionales de fertilización cruzada como medio de desarrollo de nuevos productos vegetales.
- Explicar por qué las plantas son especialmente adecuadas para la ingeniería genética.
- Enumerar y describir varios métodos utilizados en la transgénesis de las plantas, incluidas la fusión de protoplastos, la técnica de fragmentos de hojas y las pistolas de genes.
- Describir el uso del *Agrobacterium* y el plásmido Ti como vector genético.
- Definir la tecnología antisentido y dar un ejemplo de su uso en la biotecnología vegetal.
- Enumerar algunos cultivos mejorados por ingeniería genética.
- Esquematizar el impacto medioambiental, los pros y los contras, de los cultivos mejorados biotecnológicamente.
- Analizar las preocupaciones por la salud que plantean los detractores de la biotecnología.
- Citar varias formas en que la biotecnología podría reducir el hambre y la malnutrición en el mundo.



Plantas biogenéticas evaluadas mediante un control de calidad en una empresa de biotecnología vegetal.

Los jugosos tomates rojos que se venden en las tiendas de alimentación son una auténtica hazaña de la ingeniería. Incontables generaciones de la fertilización selectiva transformaron una sencilla baya ácida en la deliciosa fruta que conocemos hoy. En las últimas décadas, la hibridación convencional (mediante polinización cruzada) ha producido tomates que crecen fácilmente, maduran con rapidez y son resistentes a las enfermedades. Asimismo, las innovadoras investigaciones biotecnológicas han creado tomates que pueden permanecer más tiempo en los mostradores de las tiendas sin perder su sabor. En el futuro se presenta la posibilidad de realizar transformaciones incluso más increíbles en el tomate: puede que algún día sustituya a las inoculaciones como medio de vacuna contra las enfermedades en humanos.

En este capítulo consideraremos la función de la biotecnología en el sector agrícola. Primero analizaremos el sector agrícola para comprender mejor los motivos que impulsan la investigación y el desarrollo biotecnológicos. A continuación, enfocaremos más de cerca los métodos que se utilizan para intercambiar los genes en las plantas. También aprenderemos el modo en que la bioingeniería puede proteger los cultivos de las enfermedades, reducir la necesidad de pesticidas y mejorar los valores nutricionales de los alimentos. Después examinaremos el futuro de los productos biotecnológicos de base vegetal, desde los farmacéuticos hasta las alternativas del petróleo. Finalmente, consideraremos las preocupaciones por el medio ambiente y la salud que rodean a la biotecnología vegetal.



Figura 6.1 Vista aérea del funcionamiento de la agricultura en terrazas La agricultura es el mayor sector mundial, ya que produce 918 millones de euros en productos al año.

6.1 Agricultura: la próxima revolución

Durante los últimos 40 años, la población mundial casi se ha duplicado mientras que la cantidad de terreno disponible para la agricultura ha aumentado un escaso 10 por ciento. Aun así, seguimos viviendo en un mundo de relativa abundancia. De hecho, la producción mundial de alimentos por persona ha aumentado un 25 por ciento en los últimos 40 años. ¿Cómo es posible alimentar a tanta gente con un aumento tan insignificante del terreno? La mayor parte de esa productividad mejorada ha dependido de la fertilización cruzada desarrollada hace cientos de años para proporcionar rasgos específicos a los animales y plantas. Sin embargo, recientemente el desarrollo de nuevos cultivos más productivos se ha acelerado por la transferencia directa de genes, según se muestra en la Figura 6.1.

La **transgénesis vegetal** (transferencia directa de genes a las plantas) permite innovaciones que son imposibles de alcanzar con los métodos convencionales de hibridación. Entre las innovaciones desarrolladas con un significativo potencial comercial podemos citar las plantas que producen sus propios pesticidas, plantas resistentes a los herbicidas e incluso productos biológicos como las vacunas para plantas. Puesto que la producción de proteínas transgénicas es relativamente sencilla y que la calidad de las proteínas es razonablemente buena, el futuro de la investigación y desarrollo en estas áreas es especialmente brillante. Por ejemplo, mediante la fertilización clásica, la resistencia media de las fibras de algodón se ha incrementado de forma continua en torno a un 1,5 por ciento al año; no obstante, la biotecnología ha acelerado enormemente este aumento. Mediante la inserción de un solo gen, la resistencia de una de las principales variedades de algodón aumentó un 60 por ciento.

En 2005, el décimo aniversario de la comercialización de cultivos biotecnológicos, se plantaron una milmillonésima parte de los metros cuadrados destinados a la biotecnología. Los granjeros de 17 países están cosechando más de 800 millones de kilómetros cuadrados de cultivos mejorados gracias a la biotecnología. Los estadounidenses plantaron 444 millones de kilómetros cuadrados de maíz, brotes de soja y algodón modificados genéticamente en 2004, un aumento del 17 por ciento con respecto al año anterior. En torno al 86 por ciento de los brotes de soja, el 78 por ciento del algodón y el 46 por ciento del maíz de Estados Unidos están modificados por ingeniería genética para resistir pesticidas o herbicidas. Desde 1996 se ha producido un aumento del 4.000 por ciento en el terreno cosechado con cultivos biotecnológicos a escala mundial, donde los países industrializados y los países en desarrollo han implantado rápidamente el uso de la tecnología. Los nuevos cultivos biotecnológicos como la alfalfa, el trigo y las patatas saldrán al mercado en diez años, así como los brotes de soja ricos en ácido oleico y el arroz enriquecido con vitamina A. Más allá de los alimentos y los cultivos de alimentos, las vacunas producidas con plantas y los plásticos biológicos, así como la fitorremediación de especies vegetales mejoradas (véase el Capítulo 9) saldrán al mercado en los próximos diez años.

Aunque los cultivos de alimentos son sólo un aspecto del impacto de la biotecnología, han sido el foco de una gran controversia en todo el mundo. Por una parte, el hambre continúa atormentando a gran parte del planeta. Esta realidad es un argumento convincente para el rápido desarrollo de cultivos más productivos y nutritivos. Por otra parte, a algunos sectores les preocupa que la experimentación pueda dañar al medio ambiente y la salud de la humanidad.

El debate no ha hecho más que empezar. Para tener una opinión bien informada, los encargados de la toma de decisiones deben entender la ciencia subyacente en estos nuevos productos, analizarlos y conocer las leyes existentes sobre el control de la investigación biotecnológica. En cualquier caso, no es probable que se detenga la revolución de la biotecnología agrícola. Haya o no protestas, los productos vegetales de la biotecnología desempeñarán una función principal en nuestra sociedad. El siguiente apartado describe los métodos que se utilizan para crear nuevos productos agrícolas.

6.2 Métodos utilizados en la transgénesis vegetal

Fertilización selectiva convencional e hibridación

La manipulación genética de las plantas no es algo nuevo. Desde el nacimiento de la agricultura, los granjeros han seleccionado plantas con las características deseadas. A pesar de que la tan cuidadosa fertilización cruzada ha seguido mejorando las plantas durante milenios, lo que nos ha proporcionado grandes mazorcas de maíz, jugosas manzanas y un sinfín de otros cultivos modernizados, los métodos de la clásica fertilización de las plantas son lentos e inestables. La creación de una planta con las características deseadas requiere un cruce sexual entre dos líneas y el cruce repetido entre la descendencia híbrida y uno de los padres. Aislar una característica deseada de este modo puede llevar años. Por ejemplo, el desarrollo de la zarza blanca llevado a cabo por Luther Burbank supuso 65.000 cruces sin éxito. De hecho, las plantas de distintas especies no se hibridan en general, de modo que una característica genética no puede aislarse ni purificarse a menos que ya exista en una variedad vegetal.

Transferir genes mediante el cruce de plantas no es la única forma de crear plantas con unas características determinadas. Las plantas **poliploides** (varios juegos cromosómicos más grandes de lo normal, en general más de 2N) se han utilizado durante años como una forma de aumentar las características deseables (especialmente el tamaño) de muchos cultivos (sandías, boniatos, plátanos, fresas, trigo, etc.). El uso del fármaco colchicina (que impide la división de las células después de que éstas hayan duplicado sus cromosomas) seguido de la hibridación, es una forma de introducir características comercialmente importantes de especies relacionadas en cultivos nuevos (véase la Figura 10.9). Este proceso ofrece plantas híbridas en las que pueden transferirse juegos completos de cromosomas de plantas relacionadas en lugar de un solo gen. Los cromosomas adicionales suelen producir un tamaño mayor que las variedades silvestres originarias y además tienen nuevas características que pueden ser beneficiosas en el ámbito comercial.

La biotecnología promete salvar estas limitaciones históricas. Los científicos actuales pueden transferir genes específicos de características deseables a las plantas. El proceso es rápido y estable porque las plantas ofrecen varias ventajas únicas para los ingenieros genéticos:

1. La extensa historia de la fertilización vegetal ofrece a los genetistas de plantas un amplio abanico de variedades que pueden explotarse en el nivel molecular.
2. Las plantas producen grandes cantidades de progenie, así que pueden encontrarse fácilmente raras mutaciones y recombinaciones.
3. Las plantas poseen unas capacidades regenerativas mejores que los animales.
4. Los límites entre especies y la compatibilidad sexual han dejado de ser un problema.

Clonación: plantas que crecen a partir de una sola célula

Las células vegetales difieren de las células animales en muchos sentidos, pero tienen una característica especialmente relevante para la biotecnología: muchos tipos de plantas pueden regenerarse a partir de una sola célula. La planta resultante es una réplica genética (o clon) de la célula precursora (los animales también pueden clonarse, pero el proceso es más complicado. En el Capítulo 7 se explica detalladamente). Esta capacidad natural de las células vegetales hace que sean ideales para la investigación genética. Tras introducir el material genético nuevo en una célula vegetal, la célula produce rápidamente una planta madura y el investigador puede ver los resultados de la modificación genética en un período de tiempo relativamente corto. A continuación, explicaremos algunos de los métodos utilizados para insertar la información genética en las células vegetales.

Fusión de protoplastos

Cuando se hiere a una planta, alrededor de la herida crece una masa de células denominada **callo**. Las células del callo tienen la capacidad de rediferenciarse entre brotes y raíces, y puede producirse toda una planta en flor en la zona de la herida. Puede que ya te hayas percatado de esta capacidad si alguna vez has «clonado» tu planta favorita de casa plantando un esqueje.

El potencial natural de estas células para «reprogramarse» las convierte en candidatas ideales para la manipulación genética. Sin embargo, al igual que cualquier célula vegetal, las células callo están rodeadas por una gruesa pared de celulosa, una barrera que impide cualquier absorción de DNA nuevo. Afortunadamente, la pared celular puede disolverse con la enzima celulasa, que deja una célula desnuda denominada **protoplasto.** El protoplasto puede fusionarse con otro protoplasto de otra especie distinta, lo que crea una célula capaz de dar lugar a una planta híbrida. Este método, denominado **fusión de protoplas-**

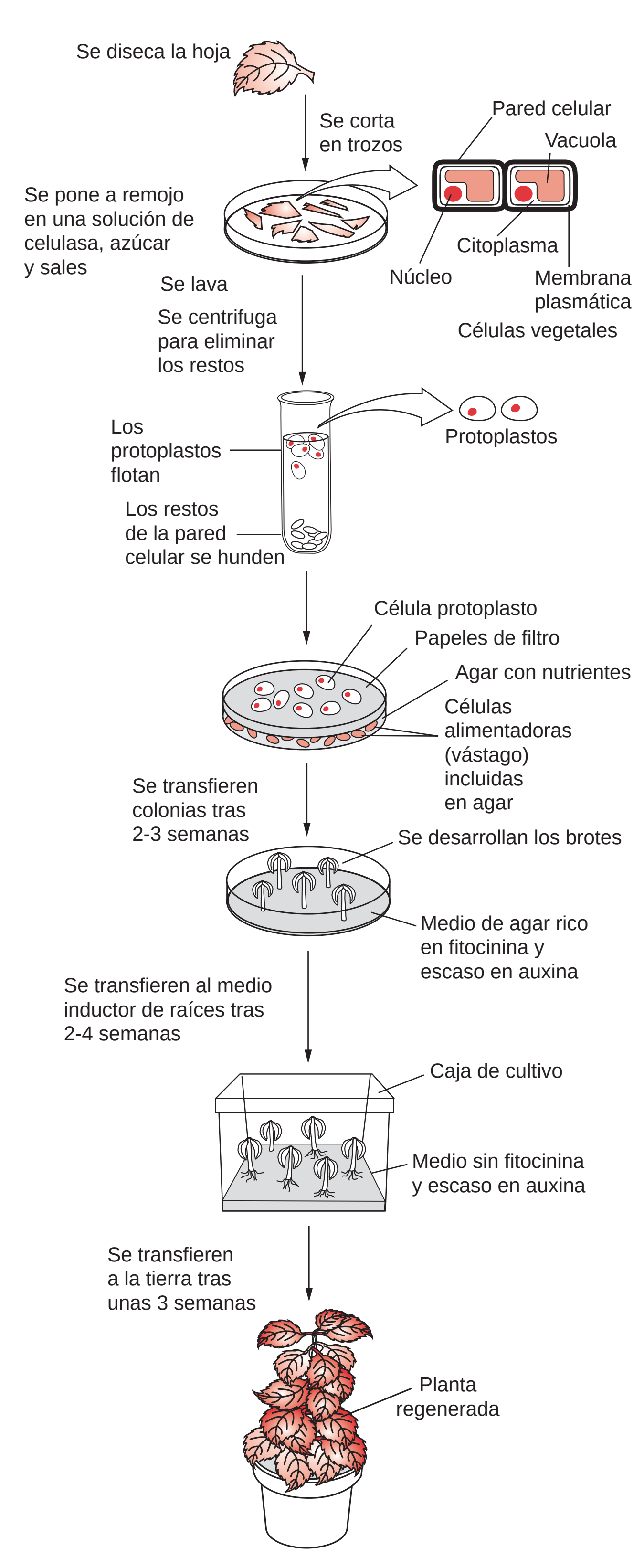


Figura 6.2 Fusión de protoplastos y regeneración de una planta híbrida Tras disecar la hoja de una planta, pueden crearse protoplastos digiriendo la pared celular con la enzima celulasa. Para crear una planta híbrida, fusiona los protoplastos de distintas plantas cultivando las células fusionadas en medios estériles que estimulen los brotes (fitocinina) y las raíces (auxina).

tos, como se muestra en la Figura 6.2, se ha utilizado para crear el brocoflor, una fusión del brócoli y la coliflor, así como otras plantas novedosas.

Técnica de la fragmentación de hojas

La transferencia genética se produce de forma natural en las plantas en respuesta a algunos organismos patógenos. Por ejemplo, una herida puede infectarse por una bacteria de la tierra denominada *Agrobacterium tumefaciens (Agrobacter).* Esta bacteria contiene una gran molécula de doble cadena circular de DNA denominada *plásmido,* que desencadena un crecimiento celular incontrolado (tumor) en la planta. Por este motivo, se conoce como **plásmido inductor de tumores (Ti).** El tumor resultante se conoce como **agallas de la corona.** Si alguna vez han visto una inflamación en un árbol o rosal, puede que hayas comprobado los efectos del *Agrobacter* (véase la Figura 6.3).

El plásmido bacteriano proporciona a los biotecnólogos un vehículo ideal para transferir el DNA. Para utilizar ese vehículo, los investigadores emplean a menudo la **técnica de fragmentación de hojas.** En este método, se cortan pequeños discos de una hoja. Cuando los fragmentos empiezan a regenerarse, se cultivan brevemente en un medio que contiene *Agrobacter* modificado genéticamente, como se muestra en la Figura 6.4. Durante esta exposición, el DNA del plásmido Ti se integra con el DNA de la célula huésped y se distribuye la carga genética. A continuación, los discos de las hojas se tratan con hormonas vegetales para estimular el desarrollo de los brotes y raíces antes de que las nuevas plantas se planten en la tierra.

La limitación principal de este proceso es que el *Agrobacter* no puede infectar a las plantas **monocotiledóneas** (plantas que crecen a partir del embrión de una hoja primordial), como el maíz y el trigo. No obstante, las plantas **dicotiledóneas** (plantas que crecen a partir de dos hojas primordiales), como los tomates, patatas, manzanas y brotes de soja, son unas buenas candidatas para el proceso.

Pistolas de genes

Hay otra opción para insertar genes en las cosechas resistentes al *Agrobacter.* En vez de confiar en un vehículo microbiano, los investigadores puede utilizar una **pistola de genes** para bombardear literalmente una célula vegetal embrionaria con diminutos glóbulos metálicos cubiertos de DNA, como se muestra en la Figura 6.5. El proceso es bastante aleatorio (y más que tedioso), pero algunas de las células vegetales adoptarán el nuevo DNA.

Las pistolas de genes suelen utilizarse para disparar DNA en el núcleo de la célula vegetal, pero también pueden dirigirse al **cloroplasto,** la parte de la célula que contiene clorofila. Las plantas poseen entre 10 y 100 cloroplastos por célula, y cada cloroplasto contiene su propio paquete de DNA. Ya se dirija al núcleo o al cloroplasto, los investigadores deben ser capaces de identificar las células que hayan incorporado el nuevo DNA. En una aproximación común, combinan el gen de interés con un gen que

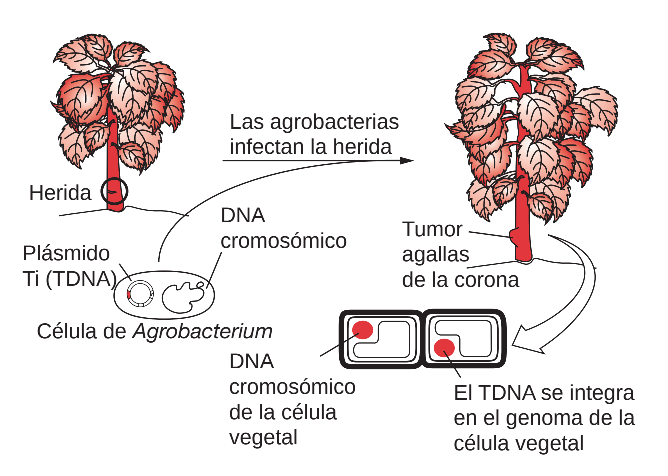


Figura 6.3 Proceso de formación de las agallas de la corona en las plantas Normalmente el plásmido Ti del *Agrobacter* provoca «agallas de la corona» o tumores en las plantas susceptibles. Gracias a la ingeniería genética, es posible silenciar a los genes inductores del tumor e insertar los genes deseables en el plásmido, lo que lo convierte en un vector para la transferencia genética en las plantas.

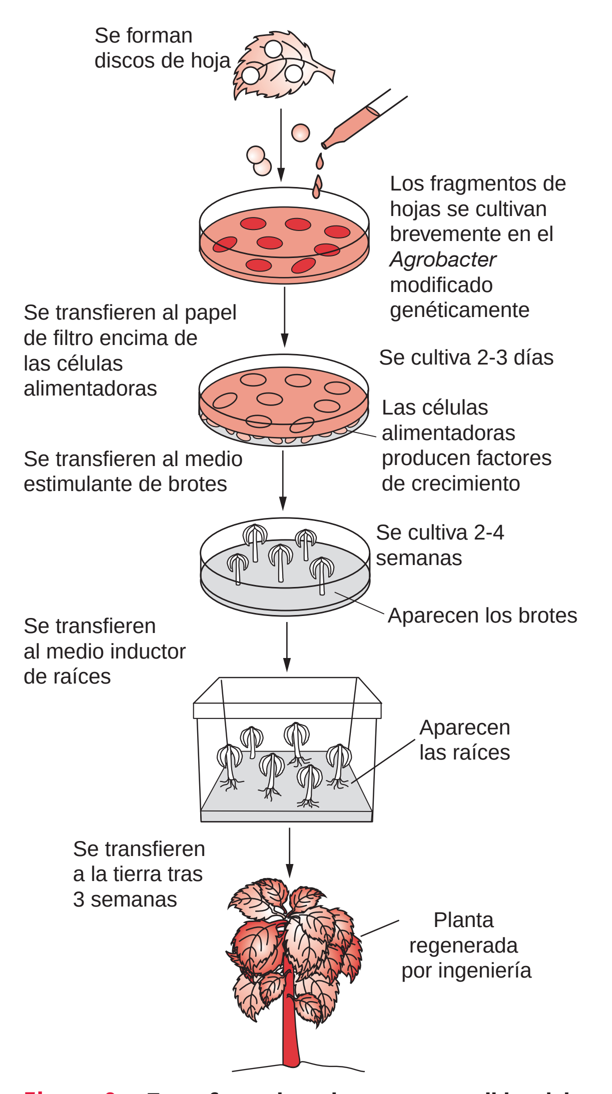


Figura 6.4 Transferencia a plantas susceptibles del plásmido Ti modificado genéticamente a través del cultivo de tejido

hace que la célula sea resistente a determinados antibióticos. Este gen se denomina **gen marcador** o gen reportero. Tras disparar la pistola de genes, los investigadores recopilan las células e intentan que crezcan en un medio que contiene el antibiótico. Sólo sobrevivirán las células transformadas genéticamente. Entonces el gen resistente a los antibióticos podrá extraerse antes de que las células se desarrollen en plantas maduras, si así lo desea el investigador. (Para obtener una explicación más detallada sobre los marcadores genéticos, véase el Capítulo 5.)

Ingeniería de cloroplastos

El cloroplasto es un atractivo objetivo para los bioingenieros. A diferencia del DNA del núcleo celular, el DNA del cloroplasto puede aceptar varios genes nuevos simultáneamente. Asimismo, un elevado porcentaje de genes insertados en el cloroplasto permanecerá activo cuando madure la planta. Otra ventaja es que el DNA del cloroplasto está completamente separado del DNA liberado en el polen de una planta. Cuando los cloroplastos se modifican genéticamente, no hay riesgo de que los genes transformados sean transportados por el viento hasta cultivos lejanos. Este proceso se muestra en la Figura 6.6 de la página 161.

Tecnología antisentido

Recordemos el tomate. Es rojo, jugoso y sabroso, y extremadamente perecedero. Cuando se cogen maduros, la mayoría de los tomates se quedan mustios en días. Pero el tomate de Flavr Savr, introducido en 1994 tras años de experimentación, puede permanecer maduro durante semanas. La ingeniería genética mejoró algo ya bueno.

Los tomates maduros normalmente producen la enzima **poligalacturonasa** (o PG), una sustancia química que digiere la pectina de la pared de la planta. Esta digestión induce la descomposición normal que forma parte del ciclo natural de las plantas. Los investigadores de Calgene (ahora una división de Monsanto, Inc.) identificaron el gen que codifica la PG, lo eliminaron de las células vegetales y produjeron una copia complementaria de éste. Utilizando el *Agrobacter* como un organismo vector, transfirieron el nuevo gen a las células del tomate. En la célula, el gen codificó una molécula de mRNA **(molécula antisentido)** que se une (secuencia complementaria) e inactiva la molécula normal de mRNA (la molécula sentido) para la producción de PG. Con el mRNA normal inactivo, no se produce nada de PG, no se digiere pectina y la «descomposición» natural es considerablemente menor. Este proceso se muestra en la Figura 6.7 de la página 161. El tomate de Flavr Savr fue el primer alimento genéticamente modificado aprobado por la Food and Drug Administration. Aunque el tomate de Flavr Savr no fue un éxito económico y ya no está disponible, hoy día podemos encontrar otras variedades de alimentos modificados genéticamente en el mercado.

Probablemente veamos más desarrollos antisentido en un futuro cercano. Por ejemplo, los tecnólogos del DNA

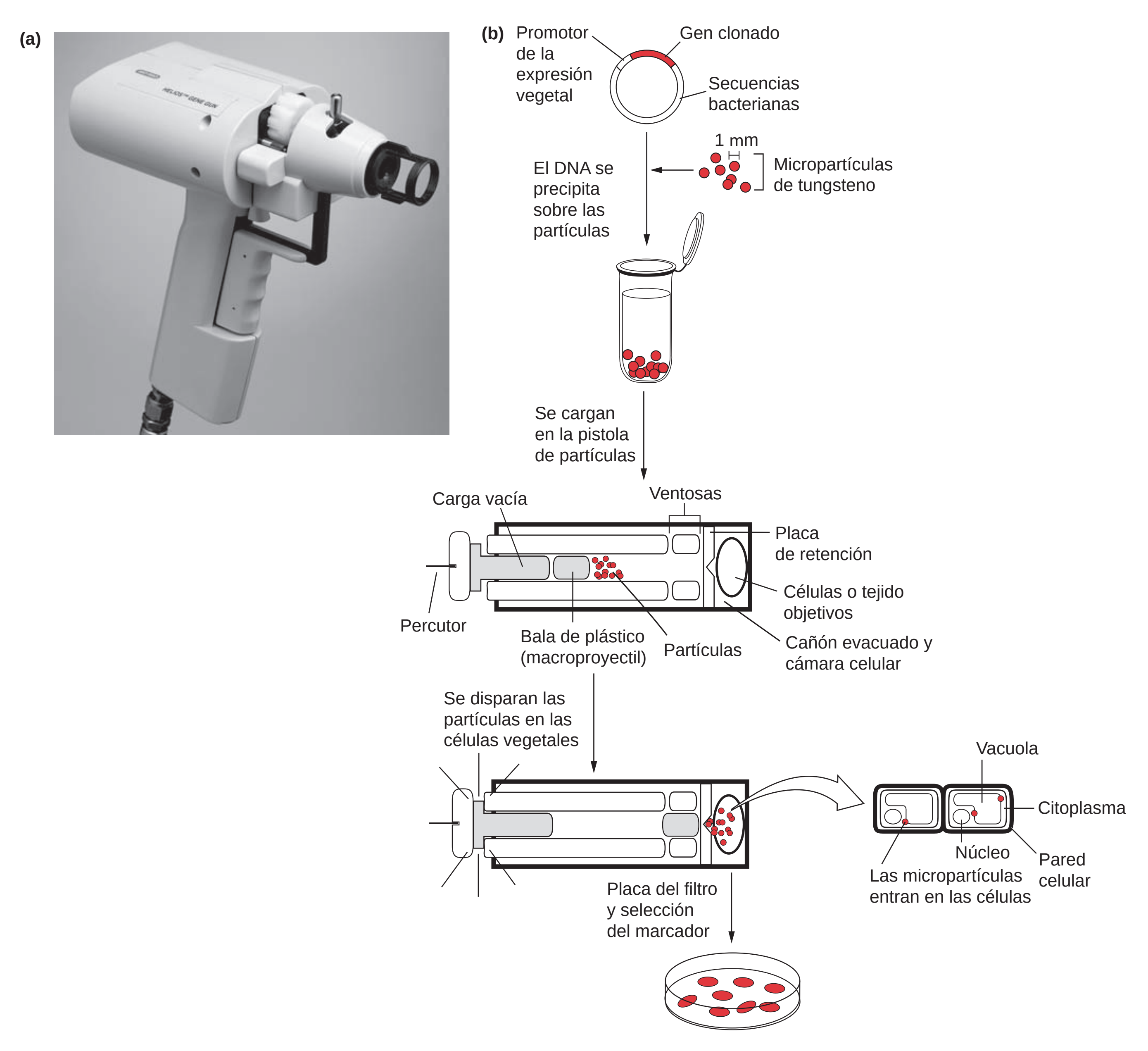
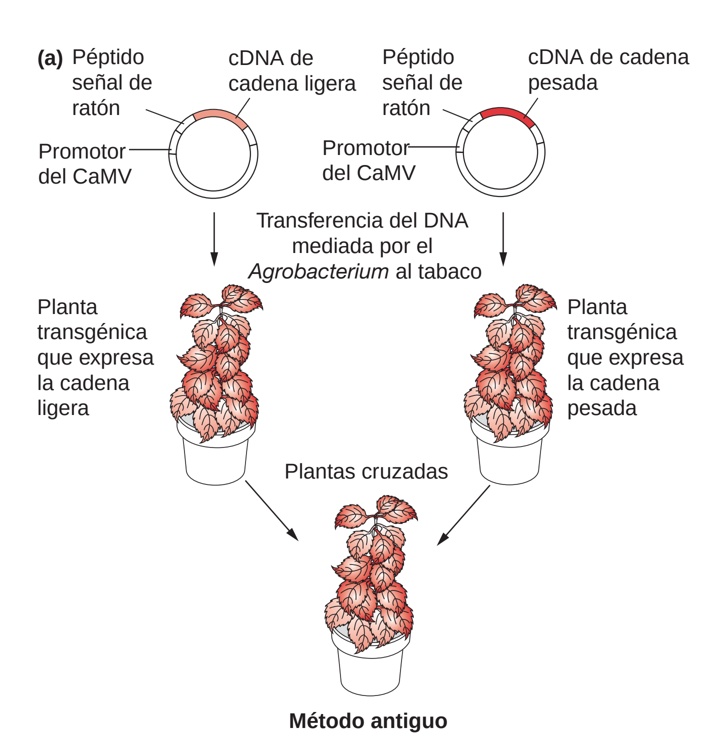


Figura 6.5 Pistolas de genes Las micropartículas de tungsteno tienen un diámetro de 1 micrómetro. El DNA recubre las superficies de las micropartículas y se dispara con velocidades de unos 430 metros por segundo. Los objetivos pueden ser suspensiones de células embrionarias, hojas intactas y núcleos de semillas blandas.

están trabajando en una patata que resiste a las magulladuras. Han eliminado el gen responsable de la producción de una enzima que promueve los cambios de color en las patatas peladas. Puede parecer una mejora sutil, pero los estudios de mercado han demostrado que los consumidores prefieren comprar patatas que no se magullan al manipularlas. Expuesto de forma sencilla, se trata de un pequeño cambio que podría traducirse en mayores beneficios para los agricultores de patatas (y en compradores de patatas más satisfechos). En una investigación similar, se han introducido algunos genes del pollo en las patatas para aumentar el contenido proteico. Esta mejora del valor nutricional de un alimento común podría ayudar a mucha gente de todo el mundo a obtener las proteínas necesarias en su dieta.

Un uso reciente de esta tecnología ha llevado a la eliminación de los genes de la amapola del opio para prevenir la producción de morfina (y heroína). Los investigadores holandeses utilizaban RNA interferente (véase el Capítulo 3) para eliminar una enzima terminal de la planta que sintetiza morfina. La suspensión metabólica llevó a un aumento de otros metabolitos que poseen actividades far-



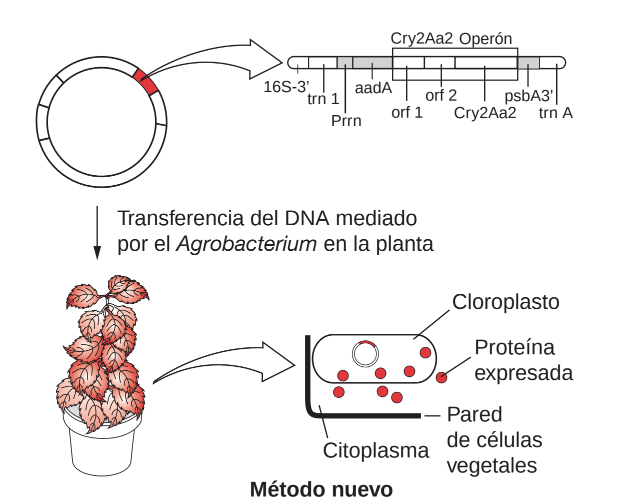


Figura 6.6 **Comparación entre el método antiguo y el nuevo para clonar varios genes en las plantas** Antes, cuando iban a expresarse varios genes, tenían que producirse dos plantas, cada una con su propio gen insertado. (a) Se precisaba de la polinización cruzada estándar para producir la planta híbrida. (b) Ahora es posible insertar varios genes introduciéndolos en el DNA del cloroplasto. Brandy DeCosa y sus compañeros de investigación científica han insertado tres genes resistentes a los insectos. Orf1, orf2 y Cry2Aa2 se insertaron en el gen ribosomal 16S (un gen expresado activamente en el cloroplasto) de un cloroplasto. Trn1 y trnA son conocidas regiones laterales del punto 16S, y aadA es un punto de selección para la resistencia a los antibióticos, necesarios para seleccionar las células que se han transformado con éxito. Prrn es un punto de unión básico para el proceso de replicación de la PCR que produce cantidades de DNA, y psbA3 es un punto que estabiliza los genes extraños en el DNA del cloroplasto. Al utilizar cloroplastos para la expresión génica, se elimina el peligro de polinizar plantas que no son el objetivo (y posiblemente a los insectos beneficiosos), porque los cloroplastos no están presentes en el polen de las plantas.

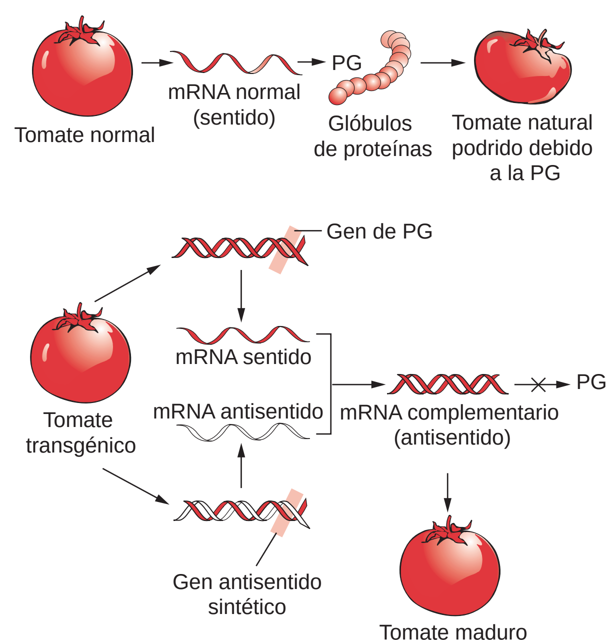


Figura 6.7 **El tomate de Flavr Savr, uno de los primeros productos comerciales de plantas transgénicas** Los tomates que se pudren lentamente se producen aislando primero el gen que codifica la poligalacturonasa. Este gen codifica el mRNA normal (sentido) que se traduce en la PG. Tras inducir que produzca un DNAc homólogo (DNA complementario) (véase el Capítulo 2), es posible insertar la PG en un vector para transferirlo a los tomates. Las plantas transgénicas con la nueva inserción producirán el mRNA de PG y el mRNA antisentido, de modo que se detenga la producción de PG (véase la tecnología antisentido). Esto ralentiza la putrefacción y produce un tomate que durará unas tres semanas tras la maduración.

macéuticas en los humanos, de modo que actúan como estimulantes del crecimiento capilar y posiblemente como agentes anticancerígenos. Aún está por ver si esta investigación se utilizará en los países pobres que dependen de la venta de opio para proporcionar un producto legal para su venta. (Véase el Capítulo 13 para consultar las consideraciones éticas que rodean a éstas y otras innovaciones de los cultivos de alimentos.) La explicación de cómo se efectúan estas innovaciones se encuentra en el siguiente apartado.

6.3 Aplicaciones prácticas en el campo

Vacunas para las plantas

Los cultivos son vulnerables a un amplio abanico de virus de plantas. Las infecciones pueden llevar a reducir el índice de crecimiento, a una escasa producción de los cultivos y a una baja calidad. Afortunadamente, los agricultores pueden proteger sus cultivos estimulando las defensas naturales de las plantas contra las enfermedades. Una opción es inyectar una vacuna en las plantas. Al igual que una inyección contra la varicela o la poliomielitis, estas vacunas contienen cepas muertas o debilitadas del virus de la planta.

La vacuna se inserta en la versión vegetal de un sistema inmunológico, lo que la convierte en invulnerable ante el virus real.

La vacunación de todo un campo no es una tarea sencilla, pero en la actualidad ya no es necesario. Ahora, en vez de inyectar la vacuna, ésta puede codificarse en el DNA de una planta. Por ejemplo, los investigadores han insertado recientemente un gen del virus del mosaico del tabaco (TMV) en las plantas de tabaco. El gen produce una proteína que se encuentra en la superficie del virus y, al igual que una vacuna, se inserta en el sistema inmunológico de la planta. En este caso, las plantas de tabaco con este gen son inmunes al TMV. La Figura 6.8 muestra este proceso.

Las vacunas genéticas ya se han probado en gran variedad de cultivos. El desarrollo de las plantas resistentes a la enfermedad ha revitalizado el sector de las papayas en Hawaii, donde estaba deteriorado. Las cepas de patatas resistentes a las enfermedades y a las plagas ofrecen muchas ventajas tanto para los agricultores como para los consumidores.

Pesticidas genéticos: ¿una alternativa más segura?

Durante los últimos 35 años, muchos agricultores han confiado en un pesticida bacteriano natural para evitar los daños que provocan los insectos. La ***Bacillus thuringiensis* (Bt),** que se registró como pesticida para las plantas en 1961, produce una proteína cristalizada que elimina a los insectos dañinos y a sus larvas. La proteína cristalina (del gen Cry) deteriora la sustancia de cementación o relleno que fusiona las células que flanquean el tracto digestivo de determinados insectos. Los insectos mueren en un corto período de tiempo debido a la «autodigestión». El gen Cry que induce este proceso es el objeto de un mercado en expansión de plantas modificadas por ingeniería genética «resistentes a los insectos». Al esparcir las esporas de la bacteria por sus campos, los agricultores pueden proteger sus cultivos sin sustancias químicas perjudiciales.

Con la introducción de la biotecnología, en lugar de esparcir la bacteria por sus campos, los agricultores esparcen los genes de la Bt. Las plantas que contienen el gen de la toxina Bt poseen una defensa contra determinados insectos. Este pesticida mejorado biotecnológicamente ha sido introducido con éxito en una amplia variedad de plantas, incluidos el tabaco, el tomate, el maíz y el algodón. De hecho, la mayoría de las semillas de algodón plantadas hoy contienen el gen de la toxina Bt, que mata con eficacia a los insectos que han infectado el algodón dañando su sistema digestivo cuando se comen las hojas. Una foto del Bt con su proteína insecticida se muestra en la Figura 6.9a.

El uso generalizado del gen de la Bt es una de las historias más exitosas de la biotecnología. También se trata de una de las mayores fuentes de controversia. Los investigadores de Cornell realizaron un experimento de laboratorio en 1999 que sugirió que el polen producido por el maíz modificado por bioingeniería podría ser mortífero para las mariposas monarcas. Los resultados fueron los esperados.

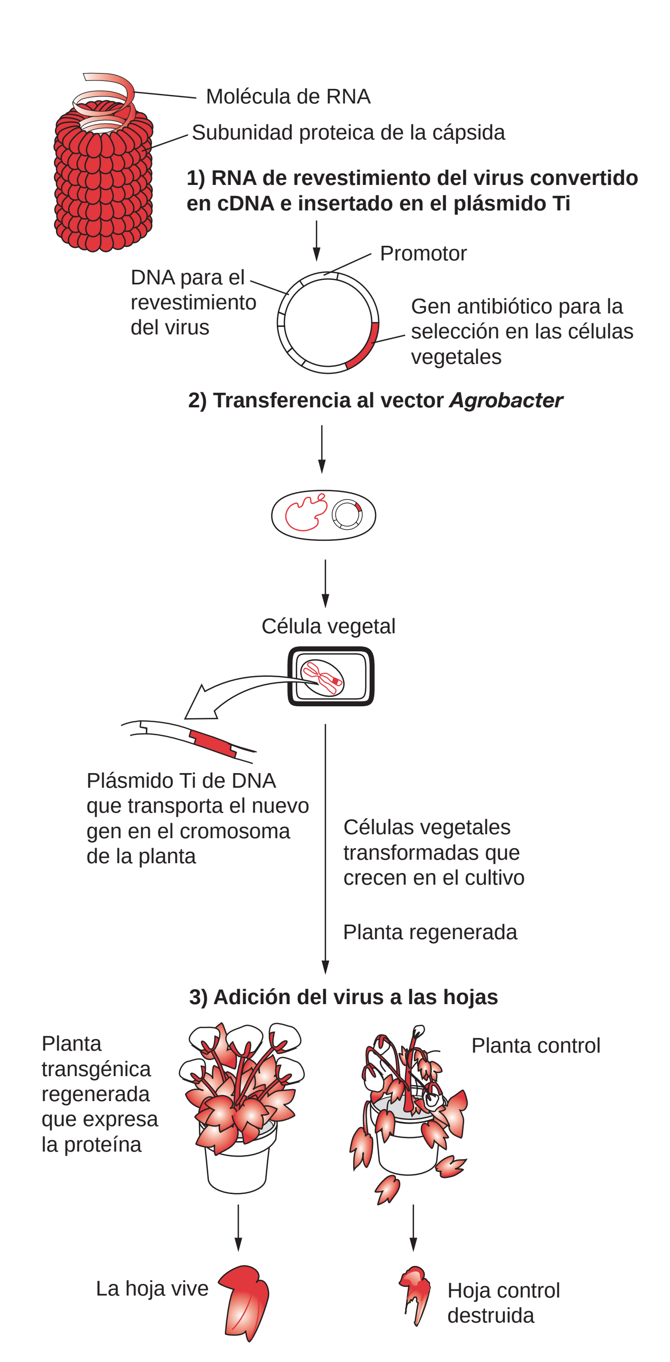


Figura 6.8 Vacunas para plantas Las plantas transgénicas que expresan la proteína de la cápsida (CP) TMV se produjeron mediante la transferencia de genes a través de *Agrobacterium*. Cuando las plantas generadas que expresan la CP vírica fueron infectadas con el TMV, mostraron una mayor resistencia a la infección. Mientras que las plantas control desarrollaron los síntomas en 3-4 días, las plantas transgénicas que expresan la CP resistieron a la infección durante 30 días.

Los investigadores saben desde hace años que, en grandes dosis, la toxina producida naturalmente por la *B. thuringiensis* podría ser perjudicial para las mariposas. Aun así, el informe desencadenó una tormenta de controversias. Fue la primera evidencia tangible de que los alimentos alterados genéticamente podrían dañar al entorno, y la mariposa monarca se convirtió rápidamente en la mascota no oficial de los detractores de la ingeniería genética.

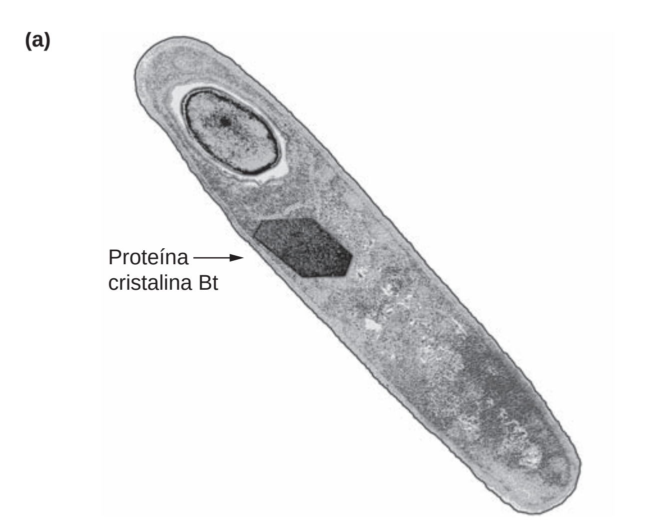




Figura 6.9 **Bt con cristal de la proteína insecticida** La figura (a) muestra la proteína cristalina como un cristal en la bacteria *Bacillus thuringiensis*. Las plantas modificadas mediante ingeniería genética que expresan el gen Cry son «resistentes a los insectos» debido a la producción de una pequeña cantidad de esta proteína bacteriana. La larva del insecto (b) que normalmente consume el tejido vegetal morirá si consume la proteína cristalina (producto del gen Cry).

Cuando los investigadores sacaron sus experimentos fuera del laboratorio y los introdujeron en el campo, muchas de sus preocupaciones se disiparon rápidamente. Varios estudios descubrieron que pocas mariposas del mundo real estarían expuestas a la cantidad de polen suficiente para causar cualquier daño. De hecho, no es probable que las mariposas ingieran cantidades tóxicas de polen incluso aunque se alimenten de plantas de algodoncillo menores de un metro del típico maizal modificado genéticamente. Aun así, los científicos especulan que un pequeño porcentaje de mariposas serán afectadas inevitablemente con una cantidad letal de polen. Algunas de las monarcas que sobrevivan a la exposición podrían quedar incapacitadas para realizar sus largas migraciones. No obstante, en general, la preocupación de que el maíz modificado genéticamente pudiera devastar a las monarcas parece ser infundada. Tras dos años de estudio, el Agricultural Research Service (una división del Departamento de Agricultura de Estados Unidos) anunció en 2002 que la toxina Bt entrañaba un pequeño riesgo para las mariposas monarcas.

Almacenamiento seguro

El campo no es el único lugar donde los cultivos son vulnerables a los insectos. En Estados Unidos, se pierden cada año millones de euros de cultivos debido a las plagas de insectos durante el almacenamiento. Este daño es especialmente devastador en los países en desarrollo con escasas reservas de alimentos. En estas regiones, unas pocas plagas podrían extender la hambruna.

Una vez más, la biotecnología puede ofrecer una solución. Los estudios muestran que el maíz transgénico que expresa **avidina,** una proteína que se encuentra en la clara de huevo, es muy resistente a las plagas durante el almacenamiento. La proteína bloquea la disponibilidad de la biotina, una vitamina que los insectos necesitan para crecer. Al aplicar esta tecnología a gran escala, podrían salvarse muchas vidas en los países en desarrollo.

Resistencia a los herbicidas

Los herbicidas tradicionales presentan un inconveniente fundamental: además de exterminar las malas hierbas, también destruyen las plantas deseables. Actualmente, la biotecnología permite que los agricultores utilicen herbicidas sin amenazar su sustento. Los cultivos pueden modificarse genéticamente para ser resistentes a los herbicidas comunes como el **glifosfato.** Este herbicida funciona bloqueando una enzima necesaria para la fotosíntesis. Gracias a la bioingeniería, los científicos han creado cultivos transgénicos que producen una enzima alternativa que no se ve afectada por el glifosfato. Este planteamiento ha tenido mucho éxito, especialmente en los brotes de soja. La mayoría de los brotes de soja que crecen hoy día contienen genes resistentes a los herbicidas. El proceso se muestra en la Figura 6.10.

En general, los agricultores que plantan cosechas resistentes a los herbicidas son capaces de controlar las malas hierbas con sustancias químicas que son más suaves y respetuosos con el medio ambiente que los herbicidas convencionales. Este desarrollo es significativo porque, antes de la existencia de los cultivos resistentes, los agricultores de algodón en Estados Unidos gastaban 212 millones de euros al año en agresivas sustancias químicas. (Esta cantidad total no incluye el factor humano de trabajar bajo el sol desherbando entre las plantas de algodón, que ahora es innecesario.)

Fibras más resistentes

Como hemos mencionado antes, la fertilización clásica sólo ha podido incrementar la resistencia media de las fibras de algodón aproximadamente en un 1,5 por ciento cada año, mientras que la biotecnología, mediante la inserción de genes aumentó la resistencia de una de las principales variedades de algodón de las tierras altas en un 60 por ciento. Unas fibras más resistentes darán como resultado tejidos más suaves y duraderos para los consumidores y unos mayores beneficios para los agricultores.

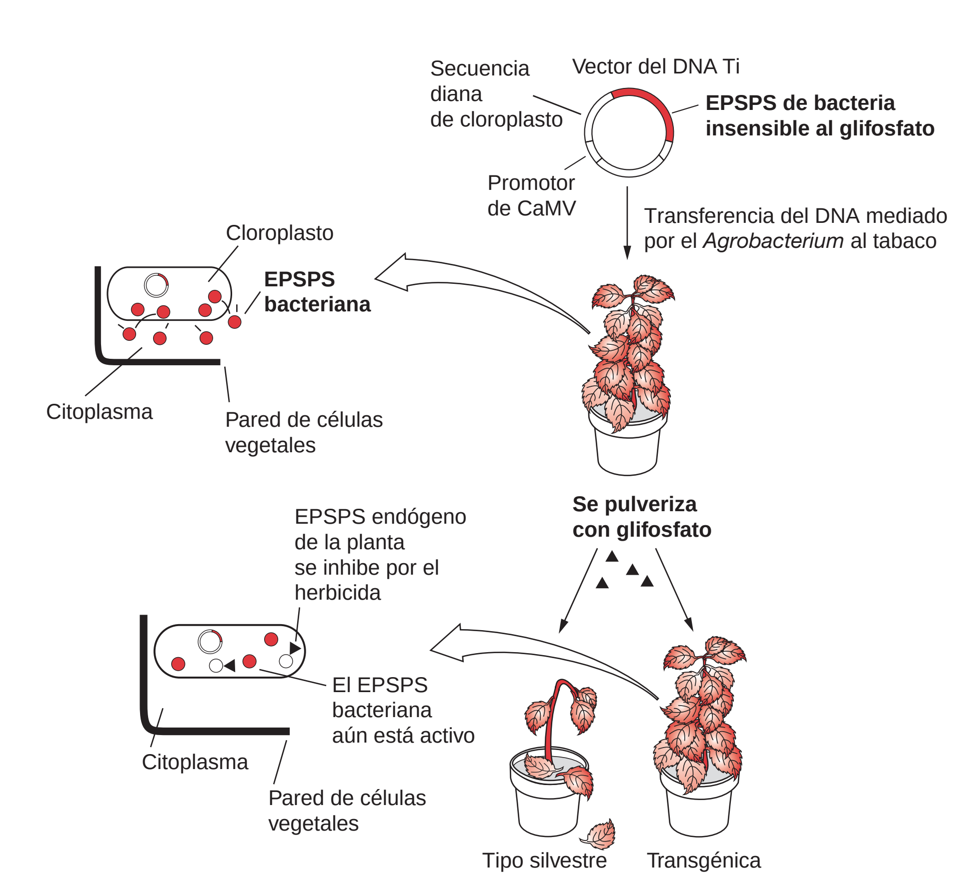


Figura 6.10 Plantas modificadas genéticamente resistentes a los herbicidas El glifosfato es un compuesto que bloquea una enzima clave en la fotosíntesis. Las plantas pulverizadas con este compuesto (p. ej., Roundup) morirán porque se bloquea una enzima clave de la fotosíntesis. Las plantas modificadas genéticamente que expresan un gen alternativo (EPSPS) pueden sortear este bloqueo con una enzima que utiliza una ruta química alternativa. La transferencia del vector del DNAt con el gen EPSPS a las plantas y la activación del promotor del CaMV (con ayuda de una secuencia diana de cloroplasto) pueden provocar la incorporación del gen EPSPS a las plantas, lo que las haría inmunes al glifosfato. Este proceso se ha utilizado en muchas variedades de plantas comerciales, lo que las hace resistentes a los herbicidas y permite a los cultivadores pulverizar las malas hierbas susceptibles y las plantas resistentes (y sustituir el glifosfato por herbicidas más dañinos).

Nutrición mejorada

De todos los beneficios potenciales de la biotecnología, nada es más importante que la capacidad de salvar a millones de personas de los efectos tan devastadores de la malnutrición. Un arma potencial contra la malnutrición es el **arroz dorado,** arroz modificado genéticamente para producir grandes cantidades de betacaroteno, una provitamina que el organismo convierte en vitamina A. Según recientes estimaciones, 500.000 niños en todo el mundo quedarán ciegos debido a la carencia de vitamina A. Actualmente, los trabajadores sanos llevan dosis de vitamina A de un pueblo a otro en un esfuerzo por prevenir la ceguera. El simple hecho de añadir el nutriente a la reserva de alimentos sería mucho más eficaz y, en teoría, mucho más efectivo (véase la Figura 6.11).

No obstante, puede que la biotecnología no sea la varita mágica que termine con la malnutrición. Aunque prometedores, los alimentos modificados genéticamente tienen sus limitaciones. Por ejemplo, la provitamina en el arroz dorado debe disolverse en la grasa antes de que pueda ser utilizada por el organismo. Puede que los niños que carecen de suficiente grasa en su dieta no aprovechen todos los beneficios del arroz enriquecido.

Los investigadores saben que no pueden solventar todos los problemas. También saben que cada pequeño paso ayuda. Motivados por el éxito del arroz dorado, los investigadores están desarrollando arroz que aporte más cantidad de hierro y proteínas, otros dos nutrientes muy necesarios en muchas zonas pobres.

El futuro: de los fármacos al carburante

Recuerda del Capítulo 4 que las plantas pueden ser perfectas fábricas de proteínas. Un solo campo de una cosecha transgénica puede producir gran cantidad de proteínas muy valiosas desde el punto de vista comercial. En este momento, el trigo transgénico posee el mayor aporte proteico por euro invertido de cualquier organismo biorreactor. Las posibilidades son prácticamente infinitas.

En un futuro no tan lejano, los agricultores cultivarán medicinas junto con sus cosechas. Ya es posible cosechar hormona de crecimiento humana a partir de plantas de tabaco transgénicas. Las plantas también pueden fabricar va-



Figura 6.11 El arroz dorado es uno de los cultivos modificados genéticamente que benefician a los países en desarrollo Los países en desarrollo generarán aumentos en la demanda mundial de alimentos.

cunas para los humanos. Pueden producirse vacunas comestibles introduciendo un gen para una subunidad del virus o bacteria. La planta expresa esta subunidad proteica y ésta se come con la planta. Cuando el antígeno de la subunidad entra en el flujo sanguíneo, el sistema inmunológico produce anticuerpos contra él, de modo que proporciona inmunidad. La necesidad de vacunas económicas que no requieran refrigeración fue solicitada por primera vez por la Organización Mundial de la Salud a principios de la década de los 90, lo que ha provocado la realización de estudios de vacunas en plátanos, patatas, tomates, lechuga, arroz, trigo, brotes de soja y maíz. Recientemente, los investigadores de la Cornell University han creado tomates y plátanos que producen una vacuna humana contra la infección vírica de la hepatitis B. Los investigadores han estudiado activamente el tomate como otra fuente de productos farmacéuticos. Mediante la modificación por ingeniería genética del cloroplasto (abundante en los tomates verdes), los científicos esperan crear una fuente comestible de vacunas y anticuerpos, como se muestra en la Tabla 6.1. Otros productos biotecnológicos potenciales incluyen el petróleo vegetal como combustible, alternativas al caucho, tabaco sin nicotina, café sin cafeína, «plásticos» biodegradables, plantas tolerantes al estrés para la producción agrícola y forestal y fibras industriales. Ya están en marcha los ensayos preliminares para varios productos farmacéuticos incluidos el interferón alfa, las vacunas animales, la vacuna contra la enfermedad de Newcastle de las aves, la lactofe-

Tabla 6.1

Rasgos beneficiosos de los productos	Cosechas
Los **cultivos de Bt** están protegidos contra los daños de los insectos y reducen el uso de pesticidas. Las plantas producen una proteína (tóxica sólo para determinados insectos) que se encuentra en la *Bacillus thuringiensis*.	Maíz, algodón, patatas **Futuro:** girasol, brotes de soja, colza, trigo, tomates
Los **cultivos tolerantes a los herbicidas** permiten a los agricultores aplicar un herbicida específico para controlar las malas hierbas sin perjuicios para el cultivo. Proporcionan a los agricultores una mayor flexibilidad en la gestión de plagas y promueven la conservación del cultivo.	Brotes de soja, algodón, maíz, colza, arroz **Futuro:** trigo, remolachas azucareras
Los **cultivos resistentes a las enfermedades** se arman contra la destructiva enfermedad vírica de la planta con el equivalente vegetal de una vacuna	Boniatos, mandioca, arroz, maíz, calabaza, papaya **Futuro:** tomates, plátanos
Los **aceites de alto rendimiento para la cocina** mantienen la textura a elevadas temperaturas, reducen la necesidad de procesamiento y crean productos alimenticios más saludables. Los aceites son ricos en ácido oleico y pobres en ácido linoleico. En el futuro, también serán ricos en estearato.	Girasol, cacahuetes, brotes de soja
Los **aceites más saludables para cocinar** presentan menos grasas saturadas.	Brotes de soja
Las **frutas y verduras de maduración retardada** poseen un sabor, color y textura superiores; son más sólidos para su transporte y permanecen frescos durante más tiempo.	Tomates **Futuro:** frambuesas, fresas, cerezas, tomates, plátanos, piñas
Los **tomates más sólidos** tienen un sabor y una textura superiores para pastas y salsas de tomate procesadas.	Tomates
El **rBST** es una forma recombinante de una hormona natural (la somatotropina bovina), que provoca que las vacas produzcan leche. El rBST aumenta la producción de leche hasta en un 10-15 por ciento. Se utiliza para tratar a más del 30 por ciento de las vacas estadounidenses.	rBST (producción de leche)
Las **enzimas alimenticias** (incluida una forma de quimosina más pura y más soluble que se utiliza para cuajar la leche en la producción de queso) se utilizan para fabricar el 60 por ciento de los quesos fuertes. Sustituye totalmente a la quimosina procedente del estómago de los terneros sacrificados.	Quimosina (en el queso), el primer producto biotecnológico del sector alimentario
Los **alimentos mejorados nutricionalmente** ofrecerán un mayor nivel de vitaminas y otros fitoquímicos saludables. Los beneficios varían desde la ayuda para que los países en desarrollo cubran los requisitos básicos en la dieta hasta la estimulación de alimentos que luchen contra enfermedades y promuevan la salud.	**Futuro:** boniatos y arroz mejorados con proteína; aceite de colza rico en nutrientes y vitamina A; frutas y verduras con incremento de antioxidantes

Fuente: encuesta de los miembros de BIO.

rrina (trastornos gástricos), la hormona estimulante del tiroides, la prevención de caries dental, la enzima de la enfermedad de Gaucher y la insulina humana.

La iniciativa Biocombustibles 2007 aumentó su financiación federal un 60 por ciento por encima de los presupuestos de 2006 con la intención declarada de sustituir el 30 por ciento del combustible actual en Estados Unidos por bioetanol para el año 2030 (véase la Figura 6.12). Los combustibles pueden producirse casi en cualquier parte del mundo a partir de materias primas de cosecha propia. Por desgracia, cambiar un mayor porcentaje de los cultivos de maíz en Estados Unidos (una fuente de glucosa procedente del grano de maíz) por la producción de biocombustibles ha aumentado el precio de los refrescos, el sirope de maíz y piensos de animales. La producción de etanol a partir del maíz tiene otras desventajas. La escorrentía de grandes cantidades de fertilizador de nitrógeno, así como de pesticidas y herbicidas, se desaguan en los acuíferos y los ríos.

La lignocelulosa, el producto vegetal más abundante del mundo, puede obtenerse a partir de la paja de trigo, las cáscaras de maíz, la hierba de las praderas, las cáscaras de arroz desechadas y los árboles. La tecnología para producir eficazmente biocombustibles a partir de estas fuentes procederá de la biotecnología. Ya se está consiguiendo separar las cadenas de moléculas de azúcar que forman la celulosa (así como la lignocelulosa y la hemicelulosa) gracias a las enzimas de los hongos, el intestino de las termitas, y también de los laboratorios de ingeniería genética. Las refinerías de bioetanol que han brotado por todo el Medio Oeste (resultantes en gran medida de las subvenciones e incentivos) pueden utilizarse para convertir los azúcares de cualquier fuente de celulosa. Puesto que se necesitan 26,5 litros de gasolina para producir 38 litros de etanol procedente de maíz, la biotecnología es necesaria para convertir las fuentes de celulosa disponibles actualmente.

Dos factores principales limitan las posibilidades de la biotecnología vegetal: nuestro conocimiento de los genes y la imaginación de los investigadores. A medida que se van secuenciando más genomas, la primera barrera está desapareciendo rápidamente. Los científicos están descubriendo genes a un ritmo vertiginoso. Y lo que es más importante, están aprendiendo el modo en que la expresión de varios genes ayuda a formar un organismo, un campo conocido como **genómica funcional.** Esta investigación abrirá la puerta a aplicaciones de la biotecnología incluso más sorprendentes en el futuro.

Ingeniería metabólica

La segunda oleada de plantas modificadas genéticamente se aplicará a la genómica funcional en forma de **ingeniería metabólica,** que es la manipulación de la bioquímica vegetal para producir productos no proteicos o para alterar propiedades celulares. Estos productos pueden ser alcaloides como la quinina (un fármaco todavía de uso común), lípidos como la larga cadena de ácidos grasos poliinsaturados para reducir el colesterol de los alimentos, politerpenos como los nuevos tipos de caucho, componentes aromáticos como el S-linalol (el atractivo aroma de los tomates frescos), la producción de pigmentos como la delfinidina azul de las flores y plásticos biodegradables como los polihidroxialcanoatos. Este desafío es ambicioso porque implica la transferencia de más de un gen y una regulación más limitada. El trabajo en esta nueva tecnología comenzó tras la publicación de la secuencia del genoma de la *Arabidopsis* (mostaza), cuando se descubrió que más del 5 por ciento de los genes eran factores de transcripción (véase el Capítulo 3 para una información más actualizada). La activación de varios genes (inserciones genéticas) requerirá mucho más conocimiento sobre la regulación natural de varios paquetes genéticos en las plantas. Las instituciones de investigación e industriales están extremadamente interesadas en las inserciones genéticas debido al potencial para controlar mejor los productos, desarrollar nuevos productos y regular las características existentes de las plantas comerciales. Si está interesado en esta apasionante investigación, ésta es una buena área que puede considerar. Si es un apasionado de la manipulación genética de las plantas, le invitamos a que lea el siguiente apartado con atención.

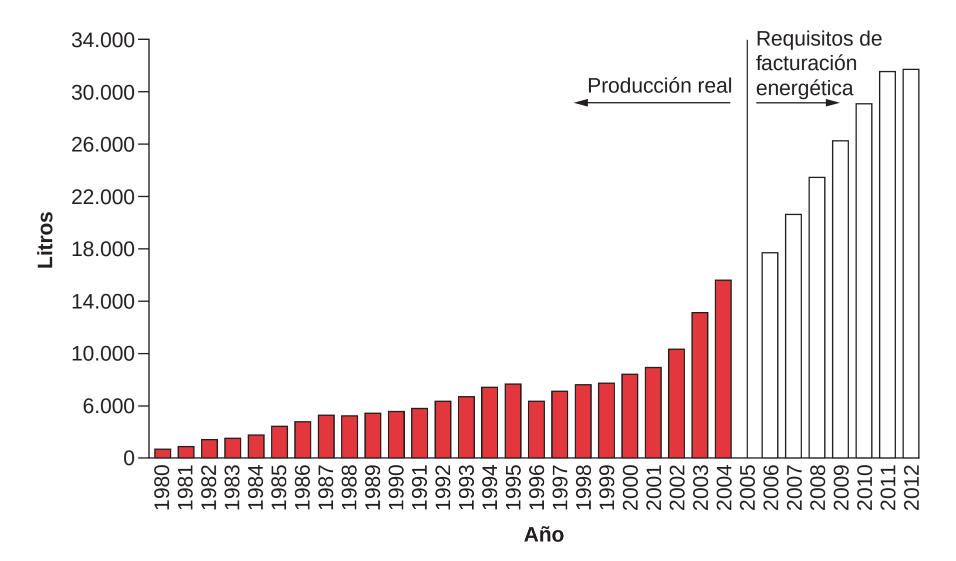


Figura 6.12 Ley de la política de energía en Estados Unidos de 2005 Pronósticos para unos 30 mil millones de litros de etanol y biodiésel que se añadirán al combustible estadounidense para el año 2012.



P ¿Las cosechas modificadas genéticamente son más saludables que las no modificadas genéticamente?
R Sí, las que se han enriquecido con vitaminas y determinados precursores metabólicos, como el arroz dorado (véase la tabla).

COSECHAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE CON PROPIEDADES PROMOTORAS DE LA SALUD

Cosecha	Sustancia GM añadida	Beneficio	Fuente transgénica
Arroz	Provitamina A	Complemento de vitamina A	Narciso, *Erwina*
Arroz	Hierro	Complemento de hierro	*Phaselous, Aspergillus*
Colza	Vitamina E	Antioxidante	*Arabidopsis*
Tomate	Flavinoides	Antioxidante	Petunia
Remolacha azucarera	Fructanos	Poco calórico	*Helianthus tuberosis*

6.4 Preocupaciones por la salud y el medio ambiente

Desde el comienzo de las plantas transgénicas, la gente se ha preocupado por los potenciales efectos perjudiciales para los humanos y para el medio ambiente. En una era en la que lo «natural» se equipara a menudo con lo «seguro», estas plantas indudablemente antinaturales conllevan un carácter peligroso. Los activistas lanzaron protestas contra las empresas que producen plantas modificadas genéticamente (GMO, organismos modificados genéticamente). Véase la Figura 6.13, que se tomó en una conferencia sobre biotecnología en el año 2000.

Tales miedos tienen el poder de hacer temblar a todo un sector. En el 2000, las plantas de procesamiento de patatas del Noroeste detuvieron la compra de patatas modificadas genéticamente. Nunca hubo síntoma alguno de que estas patatas (modificadas por ingeniería genética para ser resistentes a las plagas) fueran inferiores o peligrosas. Parecían y sabían exactamente igual que las patatas sin modificar genéticamente, y los agricultores no necesitaban utilizar litros de sustancias químicas para su cultivo. Podían sobrevivir a los áfidos y a los escarabajos de la patata, pero no pudieron hacerlo a la marea de la opinión pública (véase la Figura 6.14).

¿Qué dicen los detractores de la biotecnología vegetal? ¿Y cuáles son los otros puntos de vista? ¿Qué dice la ciencia sobre sus afirmaciones?

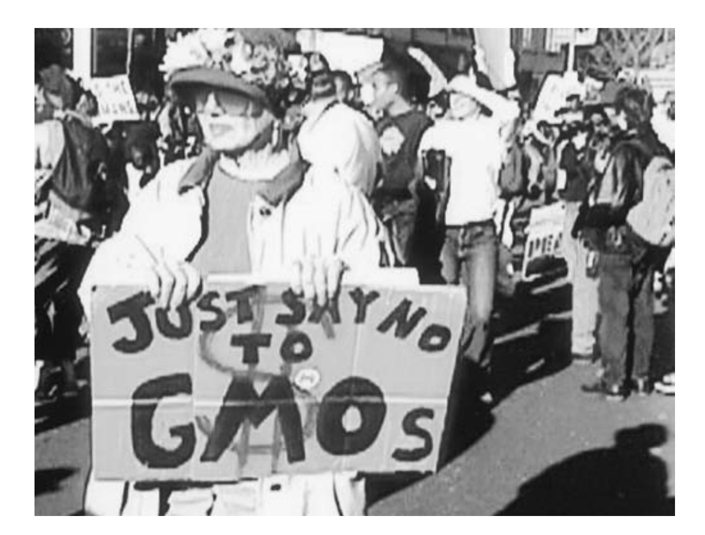


Figura 6.13 Manifestación en Boston para protestar por los alimentos modificados genéticamente en la conferencia BIO del 2000

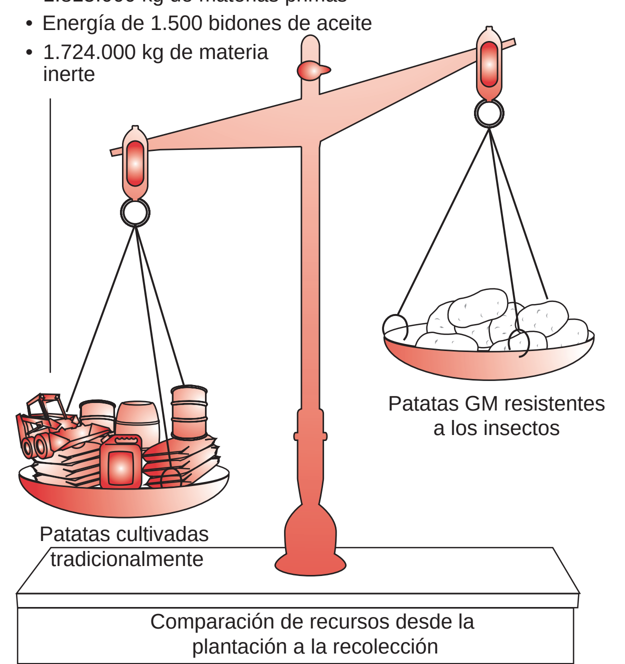


Figura 6.14 Comparación de los recursos necesarios para controlar el escarabajo de la patata y el virus de enrollamiento en las patatas de Estados Unidos. Se gastan bastantes más materias primas y energía en la producción y aplicación de este insecticida en comparación con las que se utilizan para dotar a las plantas de genes insecticidas propios.

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Supresión de los genes reporteros

Los investigadores saben que un gen ha sido transferido a una célula vegetal porque los genes resistentes a los antibióticos (por ejemplo, canamicina) suelen utilizarse como «reporteros» para la ingeniería genética comercial de las plantas. Sólo permiten que las células vegetales transformadas puedan vivir en los medios antibióticos para su selección (véase el Capítulo 3). La presencia de los genes antibióticos (y pequeñas cantidades de antibiótico) en las plantas ha provocado cierta preocupación pública. No obstante, sabemos que es posible extraer genes específicos tras la transformación y selección, porque cuatro científicos de la Rockefeller University desarrollaron el proceso. Esto implica el uso de un promotor que puede activarse (véase el Capítulo 3) para estimular la supresión mediante mecanismos naturales en el embrión o tejido orgánico de la planta *después* de que se haya producido la selección de antibióticos para las células transformadas.

Preocupaciones por la salud humana

Todas las plantas contienen DNA. Cuando masticamos una zanahoria o mordemos una rebanada de pan, estamos comiendo algo más que unos cuantos genes. Los detractores de la ingeniería genética no tienen nada contra los genes en sí mismos. En cambio, temen los efectos de los genes *extraños,* fragmentos de DNA que no se encuentran en las plantas de forma natural. Un informe de 1996 del *New England Journal of Medicine* parecía confirmar al menos uno de esos temores. El estudio descubrió que los brotes de soja que contenían un gen procedente de la nuez de Brasil podían desencadenar una reacción alérgica en las personas sensibles a las nueces de Brasil. Debido a este descubrimiento, este tipo de brotes de soja transgénicos nunca llegó al mercado.

Podemos observar este incidente de dos formas distintas. Los detractores afirman que este caso de los brotes de soja demuestra claramente los peligros de la biotecnología. Prevén muchas situaciones en que las novedosas proteínas desencadenen peligrosas reacciones en consumidores confiados. Los partidarios los ven como una historia con final feliz: el sistema detectaba la amenaza inusual antes de que llegase al público.

En este momento, la mayoría de los expertos coinciden en que es improbable que los alimentos modificados genéticamente provoquen reacciones alérgicas extendidas. Según un reciente informe de la American Medical Association, muy pocas proteínas presentan el potencial de desencadenar reacciones alérgicas, y la mayoría de ellas ya son bien conocidas por los científicos. Las probabilidades de encontrar un «leve» alérgeno desconocido en un alimento modificado genéticamente en los estantes de las tiendas de alimentación son muy escasas. De hecho, puede que la biotecnología ayude algún día a prevenir las muertes relacionadas con las alergias. Ahora, los investigadores están trabajando para producir cacahuetes que carezcan de las proteínas que desencadenan las violentas reacciones alérgicas.

Las alergias no son la única preocupación. Algunos científicos han especulado que los genes resistentes a los antibióticos que se utilizan como marcadores en algunas plantas transgénicas podrían extender bacterias causantes de enfermedades en los humanos. En teoría, estas bacterias se volverían más difíciles de tratar. Afortunadamente, las bacterias no recogen los genes de nuestros alimentos con regularidad. Según un reciente informe de la publicación *Science,* sólo hay una «mínima» probabilidad de que un gen resistente a los antibióticos pueda pasar de una planta a las bacterias. Además, muchas bacterias ya han desarrollado genes resistentes a los antibióticos.

Si analizamos la documentación que va en contra de la biotecnología, veremos que existen muchas más acusaciones. Son comunes algunos titulares como «*Los Frankenalimentos* pueden provocar cáncer». No obstante, hasta la fecha, la ciencia no ha apoyado ninguna de estas preocupaciones. La National Academy of Sciences informó recientemente de que los cultivos de alimentos transgénicos que hay actualmente en el mercado son totalmente seguros para el consumo humano.

Preocupaciones por el medio ambiente

Recuerda del apartado sobre los pesticidas genéticos que recientes estudios han acallado los temores de que los cultivos modificados por ingeniería biológica pudieran exterminar grandes cantidades de mariposas monarcas. Sin embargo, las preocupaciones por el medio ambiente no han desaparecido. Por un lado, la mejora genética de los cultivos podría conducir a nuevas variedades de las denominadas súper malas hierbas. Del mismo modo que los genes para la resistencia a los antibióticos podrían extenderse teóricamente de las plantas a las bacterias, los genes para la resistencia a las plagas o herbicidas podrían extenderse potencialmente a las malas hierbas. Puesto que muchos cultivos (incluidos los de calabaza, colza y girasoles) son parientes cercanos de las malas hierbas, ocasionalmente se producen polinizaciones cruzadas, lo que permite que los genes de una planta se mezclen con los genes de otra. En cambio, actualmente, algunos expertos predicen alguna explosión de malas hierbas mejoradas genéticamente. Son necesarios más estudios para calibrar al alcance real de esta amenaza y desarrollar formas de minimizar el riesgo.



TÚ DECIDES

El episodio de StarLink

En el año 2000, los vestigios del maíz StarLink modificado genéticamente aparecieron en los mostradores de tacos mejicanos que se vendían en las tiendas de alimentación. Pensado para el consumo animal, el maíz contenía el gen para la resistencia a los herbicidas, que se degrada en el suelo o en el estómago del ganado. En un principio, esta noticia no resultó chocante. Muchos alimentos procesados del mercado contienen productos de maíz o brotes de soja alterados genéticamente. Sin embargo, este determinado tipo de maíz nunca se había probado para consumo humano debido a las persistentes preocupaciones por las reacciones alérgicas potenciales. La Environmental Protection Agency (EPA), la agencia que regula el uso de todos los pesticidas, había aprobado StarLink sólo para la alimentación en animales y el uso industrial. El descubrimiento del maíz StarLink en las reservas de alimentos desencadenó una llamada de atención masiva sobre los productos potencialmente «contaminados». Poco después de esta llamada, Aventis, la empresa que producía StarLink, llegó a un acuerdo con la EPA para detener la cosecha de maíz.

¿Había causado algún daño este «pesticida sin aprobación»? Los Centros de control y prevención de enfermedades (CDC) se pusieron manos a la obra de inmediato para descubrirlo. Unas cuantas personas refirieron reacciones alérgicas tras comer maíz alterado genéticamente, así que los CDC investigaron cada caso con atención. Se descubrió que un total de 28 personas habían tenido síntomas coherentes con una reacción alérgica. No obstante, los análisis de sangre mostraron que ninguna de estas personas era sensible a la proteína Bt.

¿Cómo debería haberse manejado este episodio? ¿Se protegió adecuadamente al público de cualquier daño? ¿Reaccionó el Gobierno de manera exagerada? ¿Dónde está el equilibrio perfecto entre leyes e intereses comerciales? Tú decides.

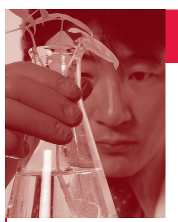
Deben sopesarse los peligros ecológicos potenciales de las cosechas mejoradas biotecnológicamente con los beneficios claramente establecidos. En primer lugar y fundamentalmente, la biotecnología puede reducir drásticamente el uso de pesticidas químicos, como se muestra en la Figura 6.14. Según la política del National Center for Food and Agriculture Policy, los agricultores que plantaron algodón mejorado biotecnológicamente en 1998 pudieron ahorrar más de un millón de euros en el uso de pesticidas.

En general, no parece que la biotecnología nos esté llevando al borde del desastre ecológico. De hecho, la National Academy of Sciences informó recientemente de que los cultivos mejorados biotecnológicamente no representan una amenaza mayor para el medio ambiente que los cultivos tradicionales.

Normativas

La biotecnología no es una frontera sin ley. Como ya hemos visto, distintas agencias regulan la producción y comercialización de los alimentos modificados genéticamente. La FDA regula los alimentos del mercado, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos supervisa las prácticas de cultivo y la Environmental Protection Agency controla el uso de las proteínas Bt y de otros pesticidas. El enfoque de estas agencias ha cambiado a lo largo de los años, especialmente en el caso de la FDA, pero están activamente involucradas en la aprobación de los cultivos vegetales. (En el Capítulo 12 se explica la regulación de la biotecnología vegetal mucho más detalladamente.)

En 1992, al principio de la revolución biotecnológica, la FDA anunció que los productos alimentarios alterados genéticamente se regularían mediante los mismos estándares estrictos que se aplican a los alimentos habituales, ni más, ni menos. Incluso a pesar de no estar limitadas por ley, las empresas alimentarias consultaban voluntariamente a la FDA antes de comercializar cualquier producto. En el año 2001, la agencia sugirió un enfoque más estricto y formal. Según las leyes propuestas, las empre-



PERFIL PROFESIONAL

Los agricultores actuales

Los agricultores del siglo XXI comprenderán la ingeniería genética (y las normativas asociadas), la botánica, las estadísticas, la química y los sistemas globales de edición de imágenes. En otras palabras, el sector de la agricultura intensiva de hoy en dia requerirá las herramientas de la ciencia. Los agricultores y ganaderos estadounidenses ya se han unido a la tecnología, que les permite convertirse en los productores más eficientes del mundo. La educación es la clave para la toma de decisiones que establecerá definitivamente la cantidad y la calidad de los alimentos y fibras disponibles para el mundo. Un estudio nacional patrocinado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos y la Purdue University proyectó unas 58.000 ofertas de trabajo al año en el campo de la ciencia agrícola, considerablemente más que la cantidad de graduados universitarios en agricultura.

La biotecnología agrícola es una de las aplicaciones más nuevas de la biotecnología, con sectores interesados en empleados con formación en biotecnología y agricultura. La capacidad de continuar produciendo los alimentos necesarios para la población humana que se duplica cada 45 años a partir de un 2 por ciento de la superficie total de la tierra del planeta no podría existir sin los avances de la tecnología, y la biotecnología ha proporcionado el mayor cambio en la agricultura de la última década.

La biotecnología agrícola ofrece un futuro prometedor a aquellos que pretendan desarrollar las habilidades necesarias.

sas deben notificar a la FDA con al menos 120 días de antelación la comercialización de un alimento alterado genéticamente la comercialización. El fabricante también debe demostrar que el nuevo producto no es más peligroso que el alimento al que sustituye. El factor determinante para los alimentos o productos de base vegetal será probablemente la actitud de los consumidores. El Center for Food Safety, la Grocery Manufacturers Association y la Food Products Association han informado al Departamento de Agricultura de Estados Unidos de «su fuerte oposición en cuanto al uso de cultivos alimentarios para producir fármacos fabricados a base de plantas ante la falta de controles y procedimientos que aseguren esencialmente el 100 por cien de las reservas de alimentos». Existen muchas plantas no alimentarias y existen sistemas de plantas de cultivo que disiparán esta preocupación. Hasta ahora no hay ningún fabricante que haya infringido estas leyes.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Consulta las respuestas en el Apéndice 1.

1. ¿Cómo se detecta si los cultivos que consumimos, ya sea maíz o brotes de soja, han sido mejorados mediante la biotecnología?
2. ¿Cuáles son los beneficios de la biotecnología agrícola para el medio ambiente?
3. ¿Cuáles son los beneficios de la biotecnología agrícola para los consumidores?
4. ¿Cuáles son los beneficios de la biotecnología agrícola para los agricultores?
5. ¿Los cultivos mejorados biotecnológicamente están etiquetados?
6. ¿Los cultivos protegidos contra insectos promoverán el desarrollo de la resistencia a los insectos?
7. ¿Cómo se sabe que no habrá ninguna consecuencia a largo plazo para los humanos o animales derivada del consumo de alimentos o piensos que contengan productos procedentes de plantas mejoradas biotecnológicamente?
8. ¿Bajo qué circunstancias se utilizan principalmente pistolas de genes para transferir genes a las plantas?
9. El arroz dorado ha salvado muchas vidas y ha prevenido enfermedades en los niños nacidos en países en desarrollo. ¿Cuánto le ha costado esta tecnología a estos países?
10. Explica el modo en que pueden utilizarse las inserciones genéticas para producir plantas resistentes a los insectos mediante la biotecnología.

Bibliografía y lecturas complementarias

Biotechnology Industry Organization,1225 Eye Street NW, Suite 400, Washington, DC 20005, 202.962.9200; info@bio.org.

Comello, V., and Beachy, R. (1999). A Leader in Revitalizing Plant Science. *R and D Magazine,* 41: 18–22.

DeCosa, B., Moar, W. S., Eung-Bum, L., et al. (2001). Overexpression of the Bt cry2Aa2 Operon in Chloroplasts Leads to Formation of Insecticidal Crystals. *Nature Biotechnology,* 19: 69–74.

Dove, A. (2002). Antisense and Sensibility. *Nature Biotechnology,* 20: 121–124.

Fox, J. (2006). Turning Plants into Protein Based Factories. *Nature Biotechnology,* 24: 1191–1193.

Grusak, M. A. (2005). Golden Rice Gets Boost from Maize. *Nature Biotechnology,* 23: 429–430.

Herrara, S. (2005). Syngenta's Gaff Embarrasses Industry and the White House. *Nature Biotechnology,* 23: 514.

International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications, Clive James, Chairman, Ithaca, NY.

Jensen, D. (2002). Coping with an Up and Down Bio-Job Market. *GEN,* 22: 18–20.

Kelly, E. (2002). Novel Technologies for Bioindustrial Enzymes. *GEN,* 22: 18–58.

Langridge, W. H. R. (2000, September). Edible Vaccines. *Scientific American*, pp. 26–31.

Martineau, B. (2001). First Fruit: The Creation of the Flavr Savr™ *Tomato and the Birth of Genetically Engineered Foods.* New York: McGraw-Hill.

Memelink, J. (2004). Putting the Opium in Poppy to Sleep. *Nature Biotechnology*, 22: 1526.

Ostlie, K. (2001). Crafting Crop Resistance to Corn Rootworms. *Nature Biotechnology,* 19: 624–625.

Ragauskas, A. J., Williams, C. K., Davison, B. H., et al. (2006). The Path Forward for Biofuels and Biomaterials. *Science,* 311: 484–489.

Romeis, J., Meissle, M., and Bigler, F. (2006). Transgenic Crops Expressing Bacillus thuringiensis Toxins and Biological Control. *Nature Biotechnology,* 24: 63–71.

Schubert, C. (2006). Can Biofuels Finally Take Center Stage? *Nature Biotechnology,* 24: 777–784.

Werner, L. (2007). Genetically Modified Foods. In M. A. Palladino, ed., *Biological Terrorism.* San Francisco: Benjamin Cummings.

Zuo, J., Niu, Q. W., Moller, S. G., et al. (2002). Chemical-Regulated Site-Specific DNA Excision in Transgenic Plants. *Nature Biotechnology*, 19: 157–161.

Employment Opportunities for College Graduates in the Food and Agricultural Sciences, 2000–2005, disponible en www.usda.gov/reports.

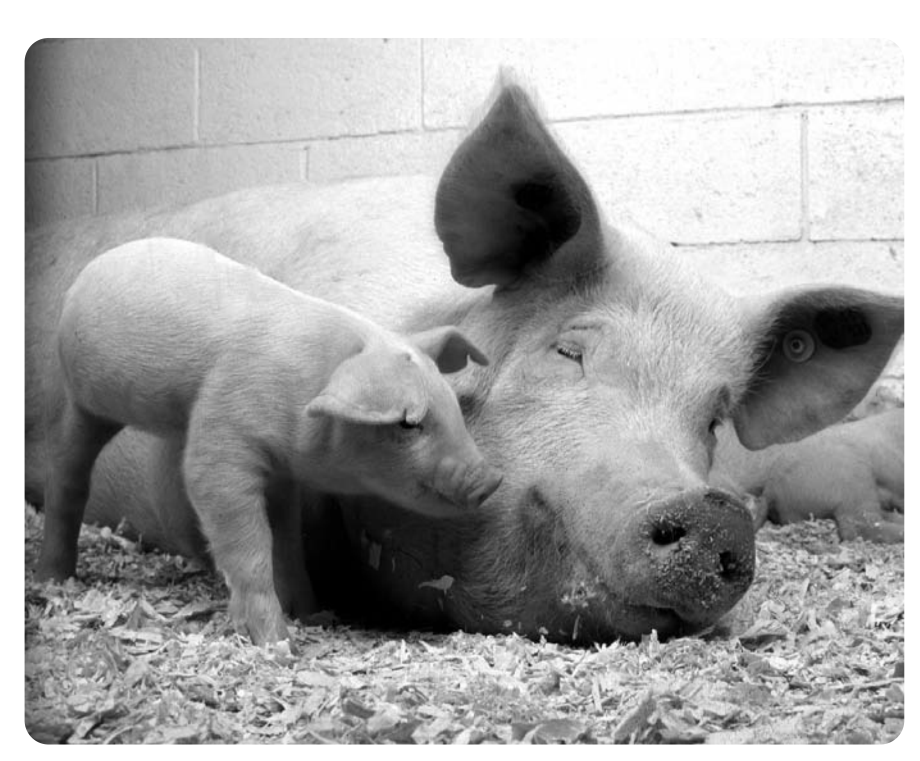
En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo 7

Biotecnología animal

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Enumerar los avances médicos realizados gracias al uso de modelos animales de investigación.
- Explicar lo que hace que un modelo animal sea idóneo para estudios genéticos.
- Describir dos alternativas al uso de modelos animales y discutir sus limitaciones.
- Debatir algunas de las preocupaciones éticas relacionadas con la investigación animal.
- Resumir el procedimiento utilizado para clonar la oveja Dolly.
- Debatir las limitaciones de todos los procedimientos actuales de clonación.
- Enumerar algunos de los productos que se pueden elaborar utilizando animales transgénicos como biorreactores.
- Explicar cómo se utilizan los animales *knockout* para proporcionar información sobre trastornos genéticos y otras enfermedades.
- Describir el proceso para la creación de anticuerpos monoclonales.



Mediante biotecnología, los cerdos podrían ser una fuente de órganos para el ser humano.

7.1 Introducción a la biotecnología animal

La oveja Dolly se parecía a una oveja y actuaba como una oveja. Pero Dolly no era una oveja normal: pasó un tiempo considerable delante de las cámaras de televisión porque era un clon, un animal gemelo idéntico creado a partir de una célula de otra oveja.

Algunas personas se sienten incómodas al ver las palabras *animal* e *ingeniería* en la misma frase. Para ellos, estas palabras evocan imágenes de vacas sin patas, pollos sin plumas u otras criaturas raras. Pero los biotecnólogos no se dedican al negocio de crear nuevos animales extraños. Los animales creados genéticamente se utilizan para desarrollar nuevos tratamientos médicos, mejorar nuestros suministros de alimentos, y aumentar nuestros conocimientos sobre todos los animales, incluidos los humanos. También pueden ser utilizados para otros propósitos que algunos pueden considerar inhumanos o poco éticos, pero las fuerzas del mercado han evitado en gran medida una introducción extendida de prácticas tan controvertidas.

Los animales ofrecen oportunidades biotecnológicas, pero presentan también muchos retos científicos y éticos difíciles. Los investigadores que afrontan con éxito estos retos tienen el potencial de contribuir de forma significativa a la ciencia y a la sociedad. Por ejemplo, los productos sanitarios y servicios para animales han generado casi 4 mil millones de euros en 2005, en beneficio de animales no humanos.

Este capítulo revisa muchos aspectos de la biotecnología animal. Comenzaremos por el uso de animales en investigación y luego estudiaremos algunos temas destacados de la biotecnología: clonación, transgénicos y el uso de animales como biorreactores.

7.2 Los animales en la investigación

Los ratones blancos son un icono en la investigación científica; junto con las batas de laboratorio y los microscopios, representan el negocio del descubrimiento. Aunque los animales han sido claves en las metodologías de investigación durante décadas, su uso es controvertido. A continuación, exploraremos el papel de los animales en la investigación (y los debates derivados).

Modelos animales

Las diferencias entre ratones y humanos son obvias, pero existen muchas similitudes genéticas y fisiológicas entre ambos. Por esta razón, las investigaciones hechas sobre el ratón –u otros animales, para el tema en cuestión– pueden decirnos mucho sobre nosotros mismos. La investigación basada en animales ha sido clave para la mayoría de los grandes avances en el siglo pasado. Sin duda, dichas investigaciones han prevenido muchos de los sufrimientos humanos, como por ejemplo:

- Sin la vacuna contra la polio, desarrollada mediante el uso de animales, centenares de niños y adultos morirían o sufrirían anualmente los efectos debilitantes de esta enfermedad.
- Sin las técnicas quirúrgicas para la catarata, que fueron perfeccionadas con animales, más de un millón de personas perderían la vista de al menos un ojo este año.
- Sin la diálisis, probada en animales, decenas de miles de pacientes que sufren enfermedades terminales de los riñones morirían.
- Prácticamente todos los avances médicos más importantes del siglo pasado han dependido de la investigación con animales.
- La biotecnología ha desarrollado 111 USDA-vacunas y **productos biológicos** veterinarios aprobados que tratan lombrices, artritis, parásitos, alergias y enfermedades cardiovasculares, así como vacunas para conejos y el HIV felino que los veterinarios usan a diario.

Tal y como recoge la Figura 7.1, fabricantes e industria están bastante interesados en los animales transgénicos.

Según las regulaciones impuestas por la Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration, FDA), los nuevos medicamentos, procedimientos médicos e incluso productos cosméticos deben pasar por pruebas de seguridad antes de ser comercializados. Las pruebas de seguridad implican metodología científica rigurosa conocida como **ensayo de fase**. La FDA exige que los fabricantes lleven a cabo un número estadísticamente significativo de ensayos con cultivos celulares, *in vivo* con animales y en humanos antes de que dichos productos sean puestos a disposición del público. Si los ensayos iniciales en cultivos celulares indican niveles peligrosos de toxicidad, el producto nunca será probado en animales *in vivo*.

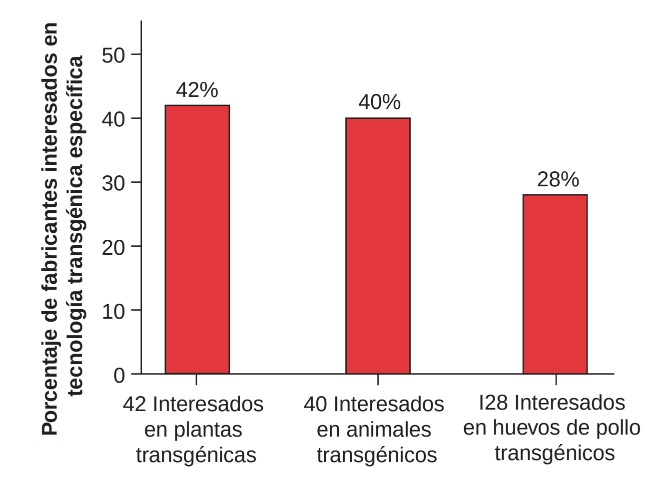
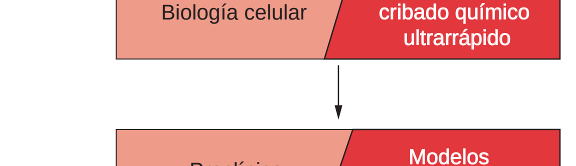


Figura 7.1 Industria transgénica La mayoría de los fabricantes se interesan por tecnología de pollos o animales transgénicos (transfiriendo genes en huevos de animales) como un medio de responder a la demanda de proteínas provenientes de la biotecnología.



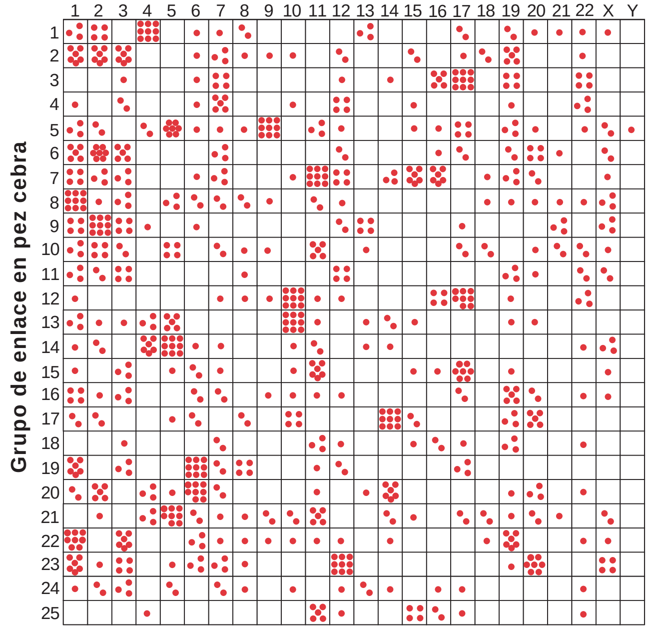


Figura 7.2 Los genes diana humanos tienen su origen en el descubrimiento y el ensayo con genes animales El descubrimiento de genes (a) empieza generalmente por el análisis de patrones genéticos en insectos (ensayo con mosca), en pez cebra (ensayo con pez cebra), o pollos (ensayo con pollo) para determinar si un gen homólogo en los humanos existe en un animal en el que se pueda estudiar (a menudo por silenciamiento o *knockout*). (b) La tabla de investigación de la Universidad de Oxford ilustra los resultados de uno de estos ensayos de búsqueda de homólogos. Los puntos representan genes similares en humanos y pez cebra marcados en la gráfica según su posición cromosómica en ambas especies. Las casillas que contienen más de un punto representan secuencias conservadas. Ensayos primarios en animales con genes homólogos pueden ahorrar tiempo para el ensayo de medicamentos en humanos.

La elección del animal para ensayar viene determinada por su similitud genética con humanos (véase Figura 7.2a). En los ensayos se utilizan dos o más especies porque se pueden observar diferentes efectos en diferentes especies animales, como se ve en la Figura 7.2b. La toxicidad y posibles efectos secundarios imprevistos pueden a menudo ser detectados mediante el uso de más de una especie con genes homólogos a los humanos. Tanto la tasa de absorción como el metabolismo químico específico, y el tiempo necesario para excretar (eliminar del cuerpo) la sustancia se pueden estudiar con modelos animales. Si se detectan problemas significativos en los ensayos con animales, no se seleccionan nunca participantes humanos para este nivel de ensayos. Aunque sean raros, pueden obtenerse resultados inesperados, aunque los participantes están informados de este potencial riesgo al ser su consentimiento informado un requisito obligado.

Puede que te preguntes por qué no son suficientes los ensayos en células *in vitro* (cultivos celulares fuera del cuerpo). La respuesta es que los nuevos medicamentos y procedimientos médicos tienen efectos más allá de las células individuales en los tejidos y órganos, y deben ser ensayados en animales para determinar el impacto del tratamiento en un organismo entero. Por ejemplo, un medicamento puede ser un potente agente capaz de matar células cancerosas, pero puede también ser destructivo para órganos no relacionados.

Un ejemplo de medicamento con inesperados efectos secundarios es Propecia (finasteride), usado para estimular el crecimiento del pelo. Se indica claramente en este medicamento que las mujeres embarazadas no deben manipular o tocar pastillas rotas o machacadas. Esta advertencia y una capa protectora especial en las mismas pastillas son el resultado directo de la información obtenida en el ensayo con animales. Estos ensayos revelaron alteraciones serias al nacer (malformaciones de los órganos reproductores) en las crías macho nacidas de madres que habían ingerido grandes dosis del medicamento. Aunque sea improbable que la simple manipulación de las pastillas produzca alteraciones similares en niños, las advertencias fueron etiquetadas antes de que el medicamento fuera comercializado. En este caso, los experimentos con animales ayudaron a prevenir desastres inesperados. Gracias a los ensayos en animales, nunca se ha recetado dicha medicina a una mujer embarazada.

Los animales que se emplean más a menudo en investigación son ratones y ratas de razas puras (cuya genética es conocida y controlada), pero se utilizan también otras especies. Los investigadores han desarrollado sistemas de modelos animales tanto vertebrados (pez cebra) como invertebrados (mosca de la fruta) y gusanos (nematodos). Uno de los animales de investigación más valioso es el diminuto pez cebra (*Brachydanio rerio*), un pez de acuario abundante y resistente (véase la Figura 7.3). El pez cebra es pequeño (los adultos miden 3 cm, aproximadamente la longitud de un clip) lo que permite albergar una gran cantidad de ejemplares en un espacio pequeño. El desove es prácticamente continuo en este activo pez de agua cálida, con unos tres meses solamente entre cada generación. La media de descendientes por hembra y por semana puede superar los 200. Los huevos de pez cebra concluyen la embriogénesis en alrededor de 120 horas. El intestino, el hígado y los riñones se desarrollan en las primeras 48 a 72 horas. Al crecer tan rápidamente estos peces, los científicos pueden realizar ensayos de toxicidad o efectos adversos en unos cinco días. Si un medicamento es tóxico para el pez cebra, probablemente lo será también para el ser humano.

El pez cebra es ideal para investigaciones sobre el desarrollo y la genética. El crecimiento rápido de un embrión visible en el interior del huevo de pez cebra (véase la Figura 7.3a) hace que los estudios sean eficientes. Estos huevos se prestan fácilmente a la transferencia de genes al no ser necesario introducirlos en hembras para su gestación, y al ser transparentes, es posible estudiar su división celular al microscopio en sus primeras horas.

Sin embargo, en ciertas ocasiones, el pez y el ratón no son los mejores animales de ensayo. Por ejemplo, los pulmones y el sistema cardiovascular de los perros son parecidos a los humanos, por lo que son una mejor elección a la hora de estudiar enfermedades cardiovasculares y alteraciones de los pulmones. Las investigaciones sobre HIV y sida se realizan con monos y chimpancés, ya que son los únicos animales conocidos que comparten con el hombre esta vulnerabilidad al virus. Aunque los gatos, los perros y los primates como los monos y los chimpancés se utilizan en casos específicos en los que su particular biología es importante para la investigación, suman menos del 1 por ciento de número total de animales de investigación. Asimismo, el número de estos animales utilizados en experimentos ha ido decayendo en los últimos 20 años debido al uso y el aumento de métodos alternativos de ensayo, los cuales trataremos a continuación.

Alternativas a los modelos animales

Siempre que sea posible, los investigadores utilizan cultivos celulares y modelos informáticos para los ensayos iniciales. Ambas herramientas son significativamente menos caras que la investigación en animales y pueden también hacernos ganar tiempo.

Como se ha mencionado previamente, a menudo se utilizan los estudios con cultivos celulares para ensayos preliminares de toxicidad de sustancias (véase la Figura 7.4). Además, algunas cuestiones fundamentales en biología se esclarecen mejor recogiendo pruebas a nivel celular. Las claves sobre qué compuesto podría ser el mejor

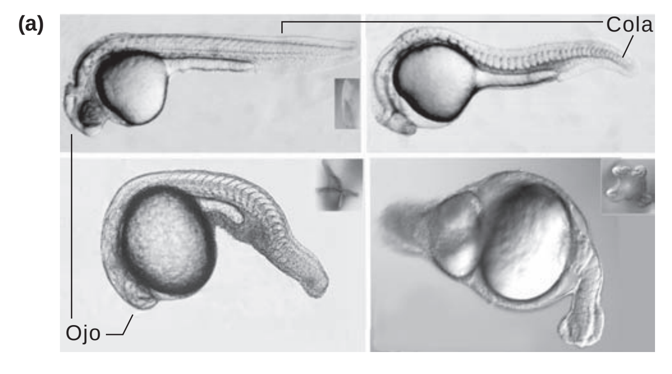




Figura 7.3 Los peces cebra se emplean habitualmente como animales de investigación Los peces cebra son alternativas de crecimiento rápido para estudios genéticos y análisis de toxicidad. El trasplante de genes en sus embriones (a) permite estudiar cambios en el desarrollo (como el crecimiento de vasos sanguíneos) antes de hacerse adultos (b). La transparencia de los embriones, la alta velocidad de crecimiento y la facilidad para estudiarlos hacen del pez cebra un modelo animal común para ensayar.

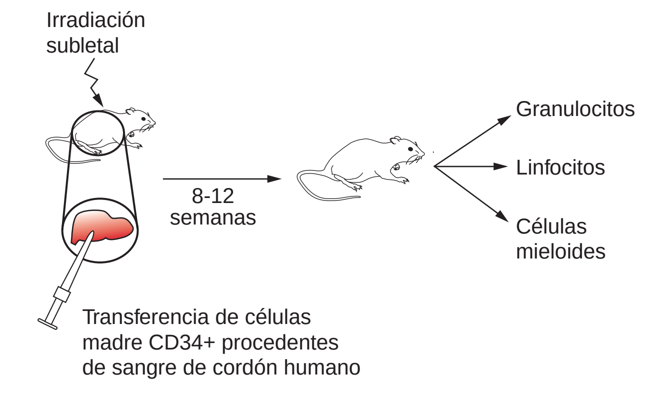


Figura 7.4 Ratones modelos del sistema inmunitario humano Tras destruir el sistema inmunitario de un ratón en desarrollo, es posible reemplazarlo inyectando células madre humanas. De esta forma, es posible estudiar terapias diseñadas para influir en este sistema de formación de células sanguíneas humanas en ratones.

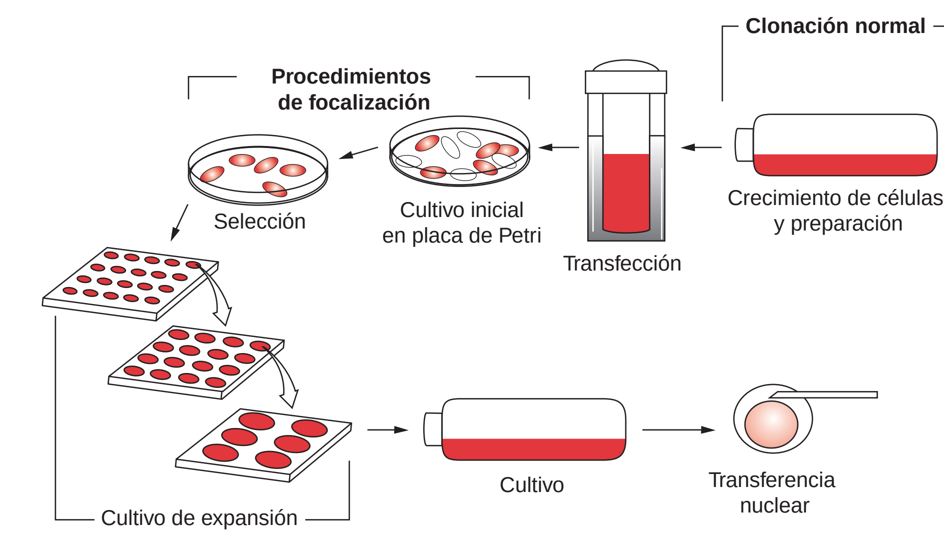


Figura 7.5 Selección y preparación de tejidos para transferencia nuclear Las células diana reciben la inserción del gen por transfección. Las pocas células que contienen la inserción correcta son seleccionadas y clonadas numerosas veces mediante cultivos (*in vitro*). En cada etapa, existe un desgaste debido a la vida limitada de las células somáticas (del cuerpo) en cultivos. Finalmente, se obtienen núcleo de células somáticas apropiados para transferencia nuclear a partir del cultivo.

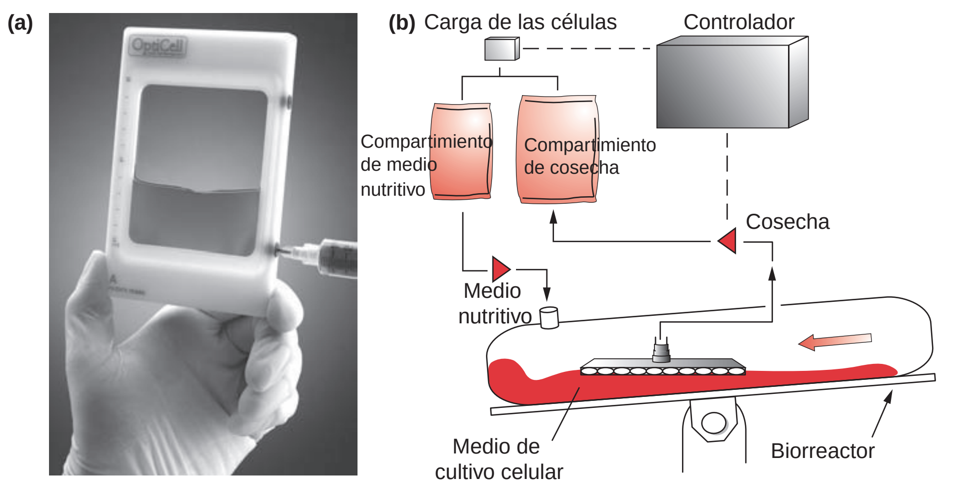


Figura 7.6 Equipos de cultivos celulares Aunque los cultivos celulares proporcionan muchas ventajas a la hora de producir bioproductos de ensayo, suelen ser una primera etapa sólo en situaciones en las que sólo se necesita una pequeña cantidad de anticuerpo o producto para el ensayo. Se pueden encontrar equipos de cultivos celulares en los que las líneas celulares (a) pueden ser inyectadas y (b) pueden ser mantenidas en un biorreactor de gran tamaño. Se puede utilizar un biorreactor con tabla grande de agitación para la producción de proteínas.

medicamento son a menudo el resultado de la investigación *in vitro* (véase la Figura 7.5). Sin embargo, como hemos comentado anteriormente, los cultivos celulares no pueden proporcionar información relativa al potencial impacto sobre un organismo vivo entero (véase la Figura 7.6).

Los ordenadores también se utilizan para simular estructuras moleculares y químicas específicas y sus interacciones. Los modelos informáticos son cada vez más sofisticados, pero los ordenadores están limitados por sus programaciones. Pueden proporcionar claves, pero no pueden proporcionar respuestas finales. A menos que sepamos el impacto sobre un sistema vivo, no podemos crear un programa informático que pueda simular este sistema. Los ordenadores son excelentes para procesar datos y ayudarnos a ver patrones que emergen, pero no pueden reaccionar a menos que les hayamos programado para ello, aunque sí pueden reducir el uso de animales en investigación. Por ejemplo, un modelo informático para ensayar la eficiencia de la Propecia nos daría el mensaje claro de que se trata de un buen medicamento; el modelo informático no podría prever los posibles defectos en recién nacidos como potencial efecto secundario.

Regulación de la investigación con animales

La investigación con animales está muy regulada. El Decreto de Protección de Animales federal sienta principios específicos relativos a la acogida, la alimentación, la limpieza y los cuidados veterinarios de los animales de investigación. Antes de que se pueda empezar un estudio utilizando animales de investigación, los investigadores deben probar la necesidad de emplear animales. También deben seleccionar las especies más adecuadas y diseñar un proyecto en el que se utilice el menor número posible de animales para la investigación. Una comisión revisa con la institución huésped la investigación mientras está en curso con el fin de garantizar el cumplimiento de los estándares federales. Agencias del gobierno observan regularmente las condiciones de los laboratorios (véanse las buenas prácticas de laboratorio, más adelante en este capítulo). Con el fin de obtener fondos de los Institutos Nacionales de Salud, de la FDA o de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades, los investigadores han de seguir los estándares de cuidados recogidos en el *Manual para el cuidado y el uso de animales de laboratorio,* formulados por la Academia Nacional de Ciencias.



HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Órganos humanos para trasplante, a partir de animales

Hasta hace poco, la capacidad de crear mamíferos mediante sofisticadas manipulaciones genéticas sólo era posible con ratones. Solamente disponíamos de un pequeño número de líneas humanas de células madre para desarrollar órganos clonados que no induzcan rechazo después de ser trasplantados (y a la larga conducir a condiciones que hagan peligrar la vida que se supone tenían que salvar). La recombinación homóloga es un acontecimiento relativamente raro, que obliga a los investigadores a analizar cuidadosamente numerosos casos de integración de DNA. La oveja Dolly introdujo un enfoque alternativo en las recombinaciones genéticas en líneas embrionarias de células madre al trabajar con genes *in vitro* y manipular las células somáticas antes de que dejaran de dividirse. La interrupción génica dirigida es una técnica importante en biotecnología animal, pero el proceso no es sencillo.

Tras recoger células somáticas, los investigadores deben modificarlas genéticamente *in vitro,* cultivarlas durante un tiempo suficiente como para aislar los escasos casos de recombinación homóloga, y después reconstruir un embrión a partir de estas células que pueden utilizarse para transferencia de núcleo (véase la Figura 7.5). Si los embriones reconstruidos viven el tiempo suficiente para la reproducción, la modificación genética puede ser propagada.

Investigadores del PPL Therapeutics han conseguido un gran avance con esta tecnología al eliminar de unos cerdos un gen que causa rechazo agudo en trasplantes de órganos de cerdo a humano. En la superficie celular de casi todos los mamíferos, salvo en los humanos y los monos del viejo mundo, existe una estructura común de carbohidratos. La presencia de esta estructura es la consecuencia de un gen, α (1,3) galactosidasa. Los humanos no tienen este gen y reconocen su función en las superficies de órganos como un antígeno. Como consecuencia, los humanos producen una gran cantidad de anticuerpos para rechazar el carbohidrato extraño. Si los científicos son capaces de eliminar este gen (y otros genes relacionados con el rechazo de órganos) *in vitro,* pueden producir los órganos humanos más demandados.

Dado el coste de la investigación, conseguir subvenciones de estas agencias puede ser esencial, por lo que la mayoría de las instituciones siguen estas directivas.

En resumen, los modelos animales desempeñan un papel esencial en la investigación científica. Todavía, los investigadores se esfuerzan para lograr los tres objetivos de la investigación con animales:

- Reducir el número de especies superiores utilizadas (gatos, perros, primates).
- Reemplazar los animales por modelos alternativos siempre que sea posible.
- Perfeccionar los ensayos y experimentos para asegurar unas condiciones lo más humanas posibles.

El Capítulo 12 recoge las regulaciones de biotecnología con más detalle.

La medicina veterinaria como ensayo clínico

No toda la investigación con animales se lleva a cabo en laboratorios. Los veterinarios que han dedicado su vida al cuidado de animales, también contribuyen a la investigación. Investigaciones realizadas en clínicas veterinarias han dado lugar a nuevos tratamientos contra el cáncer para animales de compañía. Dado que el cáncer en humanos es notablemente parecido al de los animales, la información recogida para unas especies puede ser usada para tratar a otras. Por ejemplo, el gen BRCA1 identificado en el 65 por ciento de los tumores de mama en humanos, es similar al gen BRCA1 en perros. Los ensayos clínicos para terapias contra el cáncer en animales pueden allanar el camino para ensayos en humanos.

Los ensayos aleatorios llevados a cabo tanto en perros como en humanos han demostrado que la hipertermia (calentamiento) de un punto tumoral combinada con radiaciones puede ser más efectiva en el control de un tumor local que solamente una terapia con radiaciones. Investigadores de la Universidad Duke están utilizando hipertermia junto con terapia génica para destruir tumores sólidos. Inyectan directamente en los tumores un gen que produce interleucina-12 (IL-12). Después tratan el tumor únicamente con calor. El calor desencadena la actividad del gen de control de choque térmico en el tumor, promoviendo la producción de IL-12, lo que ayuda a destruir el tejido canceroso. Si esta terapia, ahora ensayada en gatos, resultara eficaz, se podría reproducir en ensayos en humanos más rápidamente que si los ensayos primarios se hubieran llevado a cabo con cultivos celulares (y los gatos que padecen estos tumores se podrían beneficiar del tratamiento también).

En un ejemplo parecido, unos investigadores de la Universidad de Wisconsin están utilizando perros para desarrollar vacunas modificadas genéticamente para tratar el cáncer de piel. Cultivan el tumor de un animal y modifican genéticamente las células tumorales en laboratorio de manera que puedan expresar ciertas **citocinas** (factores de estimulación) que impulsen el sistema inmune del propio animal. Los investigadores observaron que en perros con melanoma de nivel 1, aproximadamente el 75 por ciento se curó de esta enfermedad.

Bioingeniería en mosquitos para prevenir la malaria

Incluso después de décadas de intentos para controlar la malaria, más de un millón de personas al año mueren por esta enfermedad, y centenares de millones más se infectan. Tan pronto como aparece una nueva herramienta, surge una nueva forma de resistencia: unos mosquitos resistentes al DDT han hecho que el DDT resulte inútil, y el número de parásitos resistentes a medicamentos aumenta cada año. Dos equipos de científicos podrían haber resuelto el problema de la resistencia gracias a la biotecnología. Un equipo de la Universidad Case Western Reserve ha transferido un gen en unos mosquitos impidiendo al parásito que atraviese el intestino medio, bloqueando la continuación de su ciclo de vida. Otro equipo de la Universidad de California en Irvine ha desarrollado un anticuerpo que impide que el parásito entre en las glándulas salivales de los mosquitos, en las que el parásito debe penetrar para desarrollarse y diseminarse. Los investigadores proyectan utilizar ambos métodos porque el parásito es particularmente propenso a desarrollar resistencia frente a cambios sencillos. Faltan al menos diez años para la diseminación de estos mosquitos en la naturaleza (tras su aprobación), pero se atisba la solución a un problema que otras metodologías no han podido subsanar con éxito.

7.3 Clones

Dolly: un gran avance en clonación

Las ovejas, como otros animales, contienen genes de sus dos progenitores. La mezcla de genes es el resultado del azar. Para comprobar esta afirmación, basta con observar a los niños de una gran familia: unos tienen el pelo rizado y otros lo tienen lacio, algunos son capaces de «enrollar» la lengua y otros no pueden. Un niño puede padecer una enfermedad que los otros no tienen. Esto quizás se podría evitar mediante clonación. Cuando se utiliza la clonación para reproducir un animal, hay solamente un contribuyente genético. La cría tiene exactamente la misma programación genética que su «progenitor». Si la oveja donante tiene lana larga y suave, el cordero también.

La **división de embriones** fue la primera etapa hacia la clonación. El primer experimento exitoso produjo dos terneros perfectamente sanos, siendo esencialmente dos gemelos creados artificialmente. Este procedimiento se utiliza hoy habitualmente en la industria ganadera, que consigue la creación de numerosas reses con las mismas líneas sanguíneas fuertes. Los esfuerzos para crear embriones gemelos dieron como resultado el nacimiento de Tetra, un mono *rhesus* sano producido a partir de la división de un embrión. El procedimiento de división de un embrión es relativamente fácil, pero tiene aplicaciones limitadas. Aunque el resultado final sea la obtención de gemelos idénticos, la naturaleza exacta de estos gemelos es el resultado de una mezcla de forma tradicional del material genético de los dos progenitores. Asimismo, se podrían conseguir unos animales con las características deseadas, pero se ha de esperar a que crezcan para averiguarlo. Por esta razón, la creación a finales de la década de 1990, de Dolly, adorada por los medios de comunicación –creada a partir de una célula adulta, no de un embrión– supuso un avance tan grande. Dolly era la réplica exacta de un ejemplar adulto con características conocidas.

Para crear un clon a partir de un adulto, se inserta el DNA de una célula donante en un huevo. En la primera etapa, se recogen las células de un animal donante y se incuban en una solución de cultivo de bajo poder nutritivo. Las células están vivas, pero privadas de ciertos nutrientes, por lo que detienen sus divisiones y paran sus genes activos. Las células donantes están entonces listas para ser introducidas en un huevo receptor (véase la Figura 7.7).

El propio huevo receptor es preparado por **enucleación.** Con una pipeta, se aspira suavemente hacia fuera el DNA concentrado en el núcleo del huevo. Los investigadores han de elegir entonces un método para introducir el juego genético deseado en el huevo. En la Figura 7.7 se muestra un método. Otro método, conocido como la técnica Honolulu, implica la inyección del núcleo de la célula donante directamente en el medio del huevo enucleado. Independientemente de la técnica usada, la manipulación de células microscópicas es extremadamente difícil.

Después de la introducción del DNA en el huevo, la biología toma el testigo.

P y R

P ¿Qué es un clon?

R Un clon es una célula o conjunto de células genéticamente idénticas a otra célula u otro conjunto de células. Los animales que se reproducen asexualmente son clones de sus padres. Los gemelos son clones uno del otro. Los clones no son nada nuevo, pero los científicos han creado nuevos tipos de clones que podrían revolucionar la medicina y la industria agroalimentaria. Tras revisar centenares de estudios sobre la seguridad de los animales clonados, en enero de 2008 la FDA, aprobó la producción alimentaria a partir de reses, cerdos y cabras clonados. Esto significa que estos productos animales pueden ser comercializados en mercados y restaurantes sin etiqueta específica. Se prevé que, en los cinco años siguientes, el mercado de animales clonados en Estados Unidos alcanzará aproximadamente 50 millones de dólares anualmente según los analistas de la industria. Debido al alto coste de los procesos de clonación, se prevé que el porcentaje de animales clonados en los mercados sea bajo, pero que el uso de clones para la producción de semen de toros se duplique o triplique. El uso de sementales clonados o idénticos genéticamente para la producción de semen es una opción de bajo coste que la industria aplicará rápidamente, ya que las reses fecundadas por esperma de toros clonados pueden producir más animales con las características deseadas.

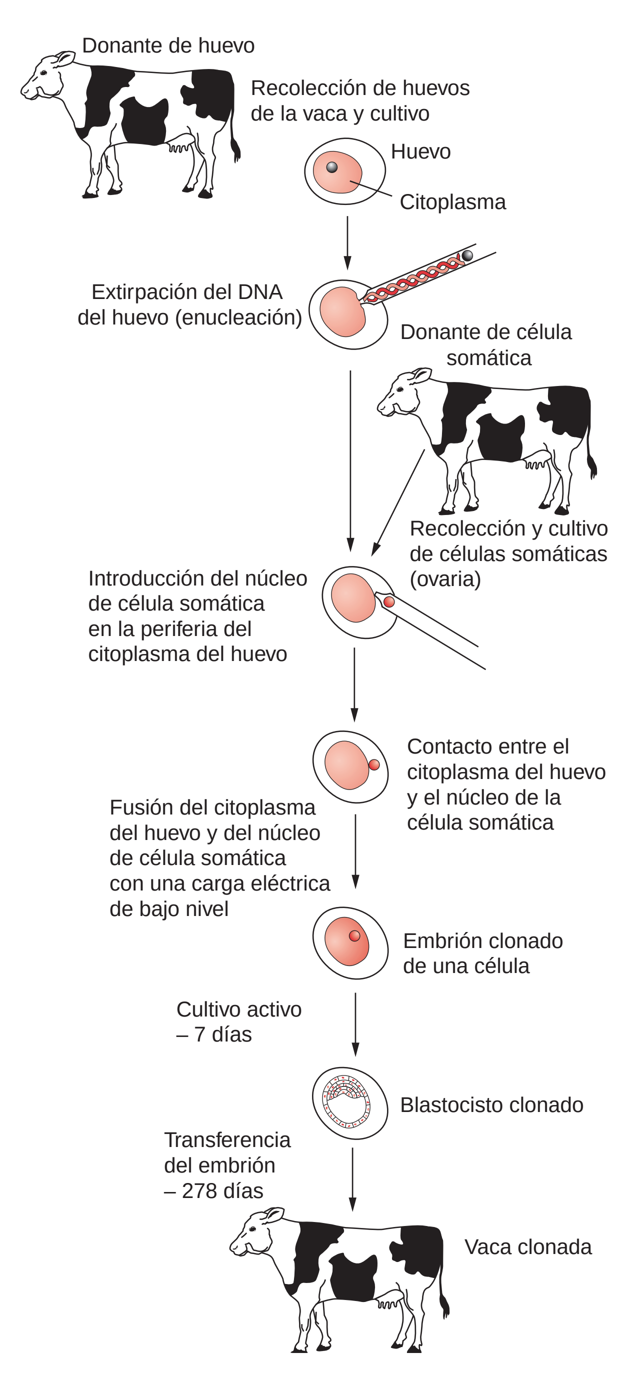


Figura 7.7 Transferencia nuclear para la producción de animales clonados La clonación empieza habitualmente con la extirpación del núcleo de un huevo fertilizado y su reemplazo con otro núcleo (posiblemente de un animal adulto como una vaca). Si el procedimiento tiene éxito, obtendremos las características deseadas con un alto grado de certeza. El éxito no es siempre fácil (¡especialmente porque se necesitan 278 días en una vaca para saber si ha funcionado!).

La nueva célula responde comportándose más como si se tratara de una célula embrionaria que de una célula adulta. Si todo va bien, la división celular empieza exactamente como lo empezaría en un huevo ordinario fertilizado. Durante los primeros días, el embrión crece en una incubadora. Luego, cuando el nuevo embrión esta listo, es transferido a una madre suplente para el resto de la gestación. La madre suplente alumbrará a un clon genéticamente idéntico al donante genético.

La lista de especies clonadas con éxito de esta manera incluye ahora a ovejas, cabras, cerdos, reses y un animal en peligro de extinción emparentado con las vacas, llamado gaur. Durante el invierno de 2002, un gatito llamado Cc: (*carbon copy*) fue el objeto de los titulares en el mundo. Este gato fuerte y sano ha abierto nuevas perspectivas para mucha gente. La clonación ya no parecía un extraño experimento científico al que se jugaba en laboratorios y granjas de investigación; la gente empezó a pensar que un clon podía formar parte de sus vidas. No es sorprendente que muchas personas guarden en bancos las células de sus preciados gatos, perros, reses y caballos con la esperanza de tener algún día su propio clon.

Los limites de la clonación

Existen límites al poder de la tecnología de clonación. Primero, la célula donante debe provenir de un organismo vivo. Los dinosaurios a la carta de la película *Jurassic Park* probablemente están destinados a quedar en la ciencia ficción. Algunas personas están intrigadas por la posibilidad de que células obtenidas a partir de mamuts congelados descubiertos en Siberia, puedan ser clonados y adoptados por un elefante de nuestros tiempos. Sin embargo, la mayoría de los expertos piensan que las posibilidades de encontrar una célula de mamut viable, conseguir clonarla y transferirla a un elefante u otro animal emparentado, son bastante remotas.

Es también importante tener en cuenta que, aunque los clones son duplicados genéticos exactos, no son exactamente idénticos al original en otros aspectos. Los animales se desarrollan tanto en función de sus experiencias y su entorno como de sus genes. Incluso los gemelos idénticos humanos no son los mismos individuos y tienen personalidades distintas. Por esta razón, las personas que guardan en bancos las células de sus queridos animales de compañía podrían sufrir una gran decepción. Por ejemplo, la personalidad de un perro está formada en parte por su relación con las demás crías de su camada, y por los acontecimientos de su vida. Aunque seamos capaces de reproducir un animal genéticamente idéntico, no hay manera de reproducir estas experiencias primarias que moldearon el comportamiento del perro. Incluso los caballos de carreras, que se reproducen cuidadosamente con el fin de obtener características genéticas esenciales, están moldeados por otros factores además de los genéticos. El gusto por correr y la voluntad de ganar pueden no ser características codificadas genéticamente. Por esta razón, es poco probable que haya prisas en clonar un caballo ganador.

Además, el índice actual de éxitos en clonación es bastante bajo, aunque esté mejorando. Dolly fue el resultado de 277 intentos. De estas tentativas, sólo 29 embriones implantados vivieron más de 6 días, y nació Dolly. Cc:, el gatito, representa el único éxito de 87 em-



TÚ DECIDES

Genetic Savings and Clone

Poco después de que la compañía californiana Genetics Savings & Clones (GSC) hiciera Cc:, produjeron otros dos gatos clonados, Baba Ganoush y Tabouli (Figura 7.8). En 2004, la compañía ocupó los titulares de la prensa al revelar que vendió una gatita clonada a una mujer en Texas, y que por, ni más ni menos de 50.000 dólares, GSC clonaría gatitos. En unos años, GSC redujo el precio a 32.000 dólares, a finales de 2006 anunciaron su cierre, y devolvieron el dinero a todas las personas que habían dejado un señal para clonar un gato. Tras seis años de negocios, GSC clonó cinco gatos pero vendió solamente dos. Muchos cuestionaron la rentabilidad de una compañía dedicada a vender animales de compañía clonados dados los costes de la clonación. Otros cuestionaron la ética de clonar animales para el disfrute de los hombres, o el hecho de crear un clon genéticamente idéntico a un animal de compañía fallecido. ¿Qué piensas de ello? ¿Se debería clonar a los animales de compañía? Si tu animal de compañía muriese, quisieras un clon idéntico si esto fuera económicamente asequible? Tú decides.

briones clonados implantados. Los fracasos de clonación no son noticia en los telediarios, y constituyen una importante barrera a la temida clonación «en serie» de animales, que no es el objetivo de los investigadores. Los científicos intentan todavía entender algunos de los inesperados problemas que surgen durante el proceso. Muchos clones nacen con defectos como lenguas ampliadas, problemas nefríticos, bloqueos intestinales, diabetes, discapacidades resultado de tendones acortados. Además, la tasa de mortalidad de las madres adoptivas es mucho más alta que en nacimientos normales. No se ha hallado un patrón claro a estos desconcertantes problemas.

Un problema todavía más desafiante es la posibilidad de que los clones envejezcan antes de tiempo. Este problema surgió cuando unos análisis indicaron que las células de Dolly parecían tener más edad de la que tenían realmente. Esta observación necesita una pequeña explicación. Cada célula del cuerpo contiene cromosomas que determinan su carácter genético. Al final de cada cromosoma, existe una serie de DNA altamente repetitivo llamado *telómero* (véase el Capítulo 2 para una revisión de los telómeros). Cuando las células se replican, en cada división el telómero se hace más corto. En este sentido, existe realmente un reloj biológico en las células vivas. Se puede saber la edad cromosómica de una célula al observar la longitud de los telómeros. Cuando los telómeros se desorganizan, aparecen señales de envejecimiento en el organismo. Unos ensayos mostraron que los telómeros de Dolly no eran los de otros corderos nacidos en el mismo año; en cambio, eran aproximadamente de la misma longitud que los de su donante, tres años mayor que Dolly. A Dolly se le diagnosticó artritis, una posible señal de envejecimiento prematuro. Desarrolló finalmente un cáncer de pulmón inducido por virus, lo cual condujo a su eutanasia en 2003. Sin embargo, este particular virus respiratorio suele infectar a las ovejas, y los científicos del Instituto Roslin no encontraron evidencias que indicaran que el tumor se originó debido a que Dolly era un clon. Otros clones podrían sufrir el mismo destino. Se ha observado, por ejemplo, que los ratones clonados tienen una esperanza de vida mucho más corta que los ratones comunes. Han surgido especulaciones sobre la esperanza de vida y su posible variación en función de las especies, pero todas las evidencias parecen indicar que la esperanza de vida más corta podría formar parte del destino de un clon.

No hay mal que por bien no venga. Los investigadores que estudian el problema del acortamiento de los telómeros han estuadiado más a fondo la telomerasa, una enzima que regenera los telómeros. Esta enzima podría ser la clave para entender y prevenir muchas enfermedades relacionadas con la edad en el futuro, así como para explicar el acortamiento de vida de un clon.

El futuro de la clonación

Cuando la noticia del nacimiento de Dolly fue anunciada en los medios de comunicación, surgió una oleada de especulaciones y preocupaciones sobre el eventual papel de la clonación, como la sustitución generalizada de los procesos de nacimientos naturales. A pesar de que se han conseguido constantes avances en las técnicas de clonación de animales, es todavía una ciencia joven y sujeta a mucha experimentación. Algunos investigadores han conseguido incluso hacer clones de clones. Se ha utilizado con éxito el DNA de células congeladas en procesos de clonación, abriendo nuevas posibilidades que dependerán de células conservadas criogénicamente.

Entre las especulaciones iniciales, estaba la idea de que los clones podían utilizarse para proporcionar partes de recambio del cuerpo de sus «padres» (el donante de la célula original). A pesar de que la compatibilidad genética reduciría probablemente los riesgos de rechazo del injerto por parte del donante convertido en receptor de trasplante, no es una solución práctica al problema de la escasez de órganos para trasplante. Aparte de las profundas cuestiones éticas sobre tales prácticas, el clon tardaría años en estar listo para donar órganos. Se atisban otras soluciones biotecnológicas mucho más prometedoras: los xenotrasplantes, el uso de órganos de otras especies, algunas de ellas adaptadas mediante el uso de transgénicos. Se prevé que los xenotrasplantes sean una fuente viable de órganos en los próximos cinco años (el Capítulo 10 recoge con más detalles esta cuestión). Otros científicos han cultivado con éxito células para producir piel, ojos y riñones rudimentarios de reemplazo para animales, desde renacuajos hasta reses.

Entonces, ¿por qué son necesarios los clones? Existen numerosas razones para que sea una ventaja el tener varios animales con exactamente el mismo patrón genético. Se pueden utilizar los clones para investigación médica, ya que sus genéticas idénticas facilitan el establecimiento de tratamientos sin las diferentes predisposiciones genéticas como factor de confusión. Los clones podrían también proporcionar una ventana única sobre los secretos celulares y moleculares del desarrollo, del envejecimiento y de las enfermedades.

El caso de animales en peligro de extinción es una razón de peso para tratar de usar la clonación para mantener la reproducción de las poblaciones. Se han superado algunas etapas en el uso de la clonación para preservar a estos animales. La transferencia de embriones entre especies se ha usado con éxito para proporcionar madres adoptivas a gatos salvajes africanos (*Felis silvestria libyca*). Noah, el ternero gaur, fue un clon nacido de una vaca doméstica adoptiva. Noah murió a causa de una infección ajena al proceso de clonación. A pesar de esta decepción, en la actualidad los esfuerzos se centran en clonar pandas utilizando oso negros más comunes como huésped.

La clonación también puede utilizarse directamente con el fin de mejorar la producción agrícola. Se necesitan aproximadamente de seis a nueve años para desarrollar y comercializar nuevas razas de cerdos. La clonación podría reducir este tiempo a tres años, y el valor económico de la clonación en la industria del cerdo podría ser considerable. Este es el plan de negocio de ProLinia, Inc., un nuevo proveedor de biotecnología genética agrícola derivado de la pericia del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad de Georgia. ProLinia estima que se necesitarán de tres a ocho años para integrar la clonación en los sistemas de producción comerciales de cerdos. La primera etapa será establecer una «granja de núcleos genéticos» que utilice genética cuantitativa y genética molecular para seleccionar una combinación particular de rasgos para la población reproductora. Las granjas de multiplicación se encargarían después de aumentar el número de cerdos, los cuales se trasladarían luego a granjas comerciales.



Figura 7.8 Gatos clonados En la feria anual de 2004 de la Asociación Cat Fanciers'/IAM en Nueva York, se presentaron los gatos Tabouli y Baba Ghanoush, de cuatro meses de edad, y su donante genético, Tahini. Los gatos Bengal fueron clonados por Genetic Savings & Clone, de Sausalito, California.

7.4 Animales transgénicos

El Capítulo 6 recoge la transgénica aplicada a la biotecnología en plantas. El proceso de introducir un nuevo material genético no está limitado a las plantas, también se puede usar en animales. En el Capítulo 4, hemos visto algunas de las diferencias entre las proteínas producidas a partir de una fuente microbiana (procariota) y de otras fuentes. Al ser mínimas las diferencias estructurales entre estas proteínas, el cultivo celular y animal ofrece buenas soluciones a la necesidad de una estructura dada. Algunos de los avances más apasionantes en biotecnología son el resultado de la investigación transgénica en animales.

Los primeros experimentos en animales transgénicos fueron llevados a cabo a nivel celular. Se añadió un nuevo gen a una célula en cultivo, y se observaron los efectos sobre esta célula. Cuando la tecnología de clonación estuvo disponible, los transgénicos cambiaron de rumbo. En lugar de manipular una sola célula, se podían añadir los genes a un gran número de células. Estas células se analizan después para identificar las que poseen los genes deseados. Después de encontrar estas células, cada una se puede utilizar para generar un animal completo a partir de una sola célula usando la tecnología de clonación (véase la Figura 7.8).

Técnicas transgénicas

Se pueden utilizar diversos métodos para introducir nuevo material genético en animales, y se siguen desarrollando y perfeccionando nuevas metodologías. Resumimos a continuación algunas técnicas:

- *Transgénicos mediante retrovirus:* se producen por la infección de embriones de ratones con retrovirus antes de que los embriones sean implantados. El retrovirus actúa como vector para el nuevo DNA. La aplicación de este método está restringida debido al tamaño limitado del **transgén** (o material genético transferido), y a que la secuencia genética propia del virus puede interferir en el proceso, haciendo de los transgénicos un proyecto más bien poco científico (el Capítulo 3 trata sobre los retrovirus).

- La **microinyección pronuclear** es un método que permite la introducción de un transgén de DNA en el estadio más temprano posible del desarrollo del cigoto (huevo fertilizado). Cuando el esperma y las células del huevo se unen, se inyecta el DNA directamente en el interior del núcleo del esperma o el núcleo de las células del huevo. Debido a que el DNA nuevo se inyecta directamente, no es necesario ningún vector, por lo tanto no hay factores externos que alteren el proceso.
- La metodología de las **células madre embrionarias,** seleccionadas a partir de la masa celular interna de los blastocistos. Éstas se fusionan con el DNA, que ha sido generado a partir de técnicas de DNA recombinante. Este nuevo material genético será reabsorbido y transformado por alguna de las células madre. Las células madre transformadas serán inyectadas hacia la masa celular interna de los blastocistos del huésped.
- Otro método similar es la **transferencia mediada por esperma,** la cual emplea proteínas adaptadoras o de unión, capaces de unir el DNA en las células espermáticas. Cuando el esperma fertiliza un huevo, porta genes valiosos en su interior.
- Finalmente, la balística génica será comentada en el Capítulo 6, que también se puede usar en células animales.

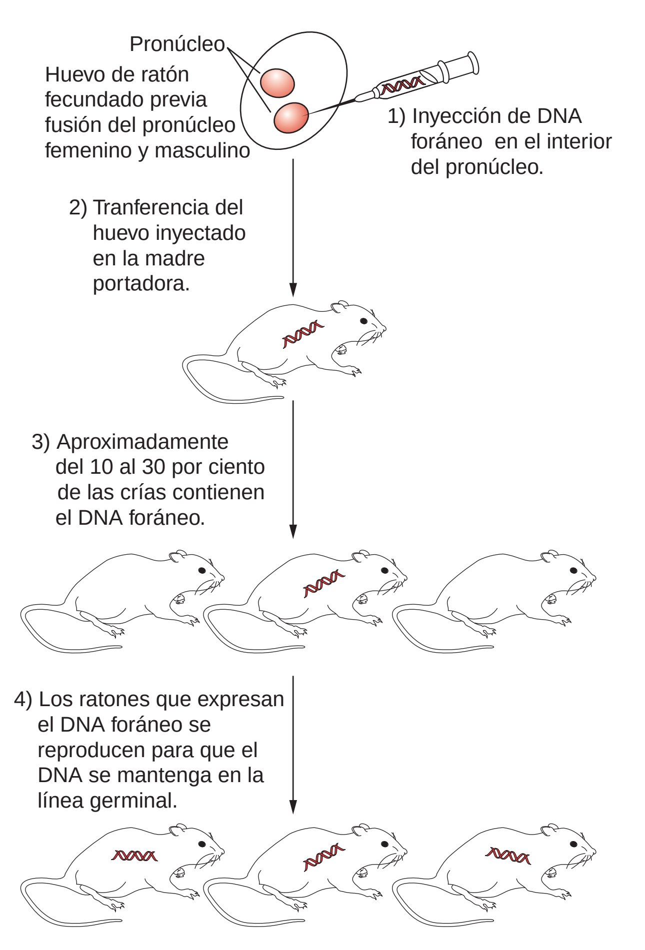


Figura 7.9 Clonación mediante microinyección pronuclear
La inyección de DNA en el interior de un pronúcleo (el pronúcleo femenino y el pronúcleo masculino son combinados en la fecundación) se utiliza para producir clones que porten el nuevo DNA.

Mejorando los productos agrícolas con transgénicos

Los investigadores han empleado la transferencia génica para mejorar la productividad de sus reservas animales. La introducción de genes responsables de tasas de crecimiento más rápidas o patrones de crecimiento, permitiría que estos animales pudieran comercializarse mucho más rápido, y la carne proporcionada podría ser más saludable para los consumidores. Este proceso es conocido como mejora selectiva.

Durante años se han utilizado técnicas tradicionales de cruce para crear gallinas que crecen a partir de un gallo para poder comercializarlas lo más rápido posible. A pesar de los continuos esfuerzos, nadie ha sido capaz de alcanzar esto en menos de 42 días. Los criadores descubrieron que las aves que requieren menos de 42 días en crecer no producen huevos. Aunque esos huevos no son la meta principal para aquellos que emplean las gallinas como carne, es muy difícil producir aves sin recoger algunos huevos. Cuarenta y dos días no parecen representar mucho tiempo, pero cada día implica gastos adicionales: se requiere más comida y se generan más desperdicios cada día. Los americanos consumen 10 mil millones de gallinas al año, y cualquier reducción en el tiempo requerido para producir esos millones de gallinas supondría ganancias significativas para los productores. Esas potenciales ganancias motivan la investigación actual, en la cual los genes que permiten un crecimiento rápido, y una mayor producción cárnica en aves están siendo intercambiadas en huevos de gallinas ponedoras cruzadas. De momento, los investigadores han tenido éxito a pequeña escala. Ahora el desafío es el desarrollo de métodos a gran escala en granjas industriales. En los próximos años, los investigadores esperan concebir técnicas que les permitan de forma precisa alcanzar de 30 a 40 mil millones de embriones de gallinas al año.

Incluso los propios huevos podrían ser más saludables para el consumo humano a través de transgénicos. Los huevos son una fuente económica de proteínas de alta calidad, pero la mayoría de la gente los evita porque son ricos en colesterol. Si modificamos los genes responsables de la producción del colesterol obtendríamos huevos más saludables bajos en colesterol.

La industria láctea es también una meta en la mejora genética. Los investigadores han empleado transgénicos para incrementar la producción láctea, generar leche más rica en proteínas y con menos contenido graso. Herman, un toro transgénico (producido por transgénicos y transferencia nuclear), porta los genes humanos de la lactoferrina. Este gen es responsable del alto contenido de hie-

rro (esencial para el desarrollo saludable en niños) presente en la leche humana. Las crías de Herman también portan los genes de la lactoferrina. Consecuentemente, y del mismo modo que los anticuerpos policlonales se producen en reses (véase la Figura 7.10), las hijas de Herman pueden ser las primeras de muchas vacas capaces de producir una leche mejor para los niños.

Otra de las mejoras más importantes es la reducción de enfermedades en animales destinados para la producción alimentaria. Durante las epidemias de la enfermedad del pie y boca en Inglaterra en el año 2000, fueron sacrificadas miles de manadas de vacas, ovejas y cabras. La pérdida de estos animales fue una catástrofe para los granjeros y una completa ruina en la industria agroalimentaria a nivel nacional. En Estados Unidos, se mostraron preocupados por la propagación de la enfermedad y esto condujo a la confiscación y destrucción de ovejas procedentes de Inglaterra, incluso de aquellos animales que no dieron positivo en el test de diagnóstico para la enfermedad. Alentados por la amenaza y estallido de una futura enfermedad, los investigadores están estudiando genes que previenen la enfermedad con la esperanza de desarrollar animales que sean resistentes a la enfermedad de pie y boca. De modo similar, se espera prevenir el cólera en cerdos y la enfermedad de Newcastle en gallinas.

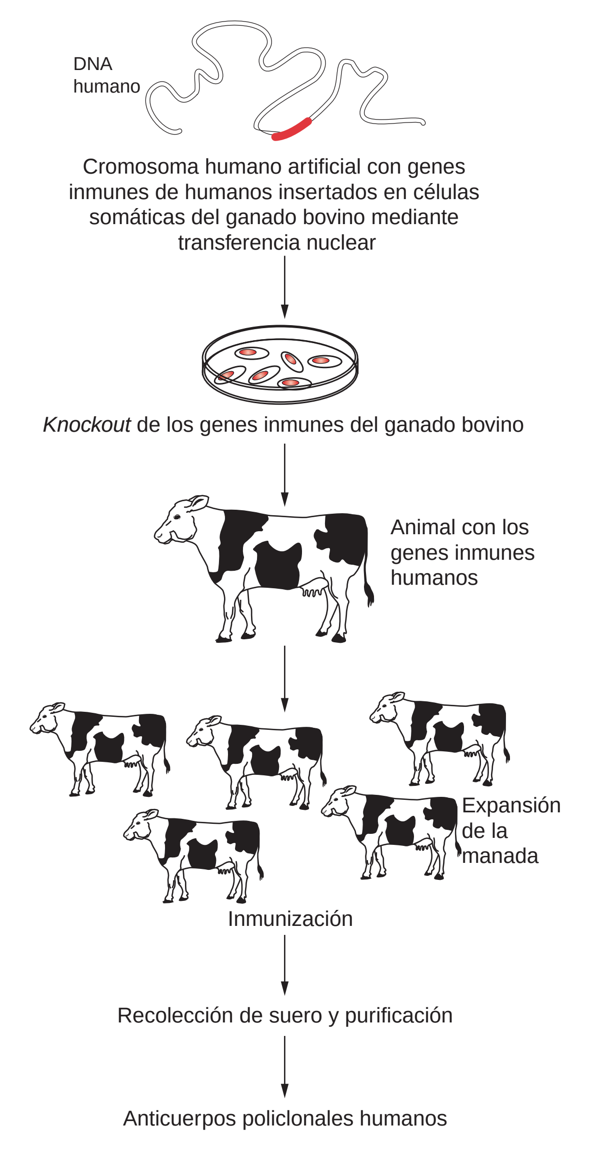


Figura 7.10 Plasma humano procedente de ganado El plasma humano destinado a los pacientes podría ser obtenido a partir del ganado clonado con los genes humanos de anticuerpos y proteínas de la sangre. Los cromosomas humanos artificiales portadores de esos genes han sido transferidos con éxito mediante procedimientos descritos en el Capítulo 4.

Investigadores del Departamento de Agricultura de Estados Unidos en Maryland, se han inclinado hacia la ingeniería genética con objeto de generar vacas lecheras capaces de resistir mastitis, una inflamación de las glándulas mamarias causada por infecciones bacterianas. Bacterias como *Staphylococcus aureus* infectan dichas glándulas, dando lugar a una enfermedad muy contagiosa que se expande rápidamente y da como resultado la pérdida de millones de dólares en la industria láctea. Los científicos han creado vacas transgénicas que contienen un gen procedente de *Staphylococcus simulans,* una cepa relacionada con *Staphylococcus aureus,* la cual produce una proteína conocida como lisostafina que elimina a *S. aureus.* Datos preliminares sugieren que esos animales presentan una verdadera resistencia a la mastitis. Sin embargo, los científicos son cautos, ya que saben que esos animales no estarán completamente protegidos de las infecciones por parte de *S. aureus* u otros microbios, aunque estas vacas representan un primer paso hacia la mejora de la resistencia frente a bacterias causantes de mastitis. Está por ver si la industria lechera acogería esta y otras vacas modificadas genéticamente.

Los investigadores de la Universidad de Guelph en Ontario (Cánada) han desarrollado recientemente el **Enviropig,** un cerdo transgénico que expresa la enzima fitasa en su saliva. Este cerdo se considera beneficioso para el medio ambiente, ya que produce bastante menos fósforo en su orina y heces respecto de los cerdos no transgénicos. El fósforo es el mayor contaminante generado en las granjas de cerdos. La fitasa reduce los fosfatos en la comida de los cerdos, reduciendo el incremento de fósforo, aproximadamente un 30 por ciento, en los productos de desecho excretados por estos animales.

La seguridad en la alimentación también se puede mejorar mediante tecnología transgénica. Las infecciones alimentarias podrían reducirse en el futuro con la transferencia de genes antimicrobianos en los animales de granja. Esta aplicación reduciría los cientos de muertes causadas por intoxicaciones en Estados Unidos cada año y esto significa un menor empleo de antibióticos en agricultura. Esta es una buena noticia porque el abuso de antibióticos ha llevado al desarrollo de cepas resistentes de *Salmonella, Listeria* y *E. coli.*

Los investigadores se han pasado a los transgénicos para crear animales que servirán mejor contra el hambre en las poblaciones más pobres del mundo. En muchos lugares, hay poca tierra para cultivo, así como escasa tierra

para el ganado. Los investigadores están dirigiendo su atención al problema de transformar animales más eficientes en el pastoreo, de modo que puedan sobrevivir en la misma tierra. Para finalizar, están buscando la estructura genética de los animales de pastoreo salvaje, como los antílopes africanos, capaces de prosperar en ambientes donde los animales domésticos no lo conseguirían. También es posible crear reses que sean capaces de trabajar más eficientemente en condiciones más duras como en el arado de la tierra. Los científicos trabajan para conseguir la mejora de las reservas de ganado; también están preocupados con la identificación y conservación de la herencia genética tradicional de los rasgos y variedades de las reservas animales.

Los animales transgénicos como biorreactores

Como vimos en el Capítulo 4, las proteínas son productos biotecnológicos importantes y los animales pueden servir como biorreactores para producir dichas proteínas. Un animal biorreactor debe funcionar del siguiente modo: primero, el gen que produce la proteína deseada es introducido mediante transgénesis en la célula diana. Segundo, empleando técnicas de clonación, se hace crecer a la célula hasta convertirla en un animal adulto. Este animal adulto puede producir leche o huevos con la proteína deseada, gracias al gen introducido previamente.

Un ejemplo de la aplicación de esta tecnología es Biosteel, un extraordinario nuevo producto que pronto será usado para reforzar los chalecos antibalas y los hilos de sutura en operaciones quirúrgicas. Fundamentalmente, Biosteel está hecho a partir de las proteínas procedentes de la tela de araña, las cuales son una de las fibras más resistentes de la tierra. En el pasado, la tela de araña nunca había sido viable como producto industrial porque las arañas producen muy poca para ser útil. Gracias a los transgénicos, las arañas son sólo son la fuente de proteínas procedentes de la tela de araña. Los genes encargados de la producción de tela de araña se han transferido con éxito a cabras, y estas cabras se han reproducido, pasando el nuevo gen hacia las crías. De modo que ahora tenemos cabras que producen leche y tela. En este caso, no es necesario monitorizar estos biorreactores. Estas cabras, como se observa en la Figura 7.11, comen hierba, heno, grano y además producen de manera natural leche que contiene las proteínas procedentes de la tela de araña. La purificación de estas proteínas se realiza con los métodos descritos en el Capítulo 4, los cuales emplea la industria para tejer hilo para la fabricación de las diferentes aplicaciones comerciales mencionadas.

Los animales transgénicos también se usan para la elaboración de productos farmacéuticos. El gen humano conocido como ATryn, responsable de uno de los agentes de coagulación en humanos, ha sido transferido a cabras. Como resultado, la leche de cabra contiene proteínas que previenen la coagulación de la sangre. Un rebaño de 100 cabras sería capaz de producir esta preciada sustancia por valor de unos 150 millones de euros. Los métodos transgénicos son rápidos, de confianza y más baratos que otros métodos más complejos y alternativos empleados en la síntesis de proteínas farmacéuticas. Este producto fue aprobado para su uso en 2006 por la Agencia de Evaluación de Medicinas Europeas (EMEA), pero no así por la FDA. El número de pacientes con la deficiencia hereditaria de la anti-trombina que se trata con ATryn no es grande, pero los individuos que sufren problemas de coagulación durante la cirugía o los nacimientos podrían ser suficientes para que este producto sea obtenido a partir de la leche de cabra.

Te preguntarás por qué los investigadores en transgénicos emplean cabras. Las cabras se reproducen más rápidamente y son más baratas que el ganado vacuno. También porque son grandes productoras de leche, por ello son una buena elección para el desarrollo de productos transgénicos. Muchas de las enfermedades que presentan un tratamiento a corto plazo pero que requieren una gran cantidad de proteínas recombinantes, podrían obtener su tratamiento a partir de animales transgénicos. Hasta que la terapia génica no se generalice, las proteínas terapéuticas procedentes de transgénicos son la alternativa más atractiva frente a las terapias de reemplazo en trastornos genéticos como la hemofilia.

Como ya debes saber, los hemofílicos carecen de la proteína funcional de coagulación anti-trombina III. Esta



Figura 7.11 Cabras con transgenes productores de proteínas de interés en la leche Los animales transgénicos (biorreactores), como cabras, vacas y gallinas, ofrecen la ventaja de tener gastos de producción bajos para la producción de proteínas transgénicas.

proteína se está produciendo en cabras transgénicas y está en fase de pruebas para la aprobación de la FDA. El empleo de animales transgénicos para la producción de proteínas terapéuticas complejas supone bajos costes de producción, grandes cantidades de producción y el desarrollo de productos seguros y libres de patógenos.

Los animales productores de leche no son los únicos empleados como biorreactores. Los huevos son un método eficiente para la fabricación de productos biotecnológicos. Debido a que las aves de corral tienen un sistema de reproducción muy eficiente, es fácil generar cientos de huevos en un tiempo relativamente corto. Cada gallina produce al menos 250 huevos por año. Cada huevo contiene aproximadamente 3,5 g de proteína, el reemplazo de una pequeña fracción de esta cantidad de proteína por proteína recombinante sería altamente productivo en una gallina biorreactora. Algunos productos médicos como la lisozima y las vacunas con virus atenuados se están obteniendo a partir de huevos. Más adelante en este capítulo, discutiremos el uso de las gallinas en la producción de anticuerpos.

Knockouts: Un caso especial de transgénicos

La adición de genes es sólo una parte de la historia de los transgénicos. Podemos reducir también la influencia de un gen. Los investigadores están trabajando con maíz transgénico –también denominado maíz *knockout*– para entender qué ocurre cuando se elimina un gen. Los ***knockouts*** se han desarrollado mediante ingeniería genética eliminando un gen. Se sustituye un gen activo por DNA sin información funcional. Cuando el gen es eliminado de su lugar por este DNA, el rasgo controlado por ese gen se elimina.

Los ratones *knockout* se generan a partir de células madre embrionarias con un DNA especialmente modificado. El DNA es modificado con el empleo de técnicas de DNA recombinante, o bien recortando una región específica, dejando una deleción en el código genético, o reemplazando una región de DNA por otra que carece de función. Imagina que el DNA es un conjunto de letras que forman una frase que proporciona direcciones, pues bien, el *knockout* borraría, o reemplazaría una palabra. Si comenzamos con «Abre la puerta y coloca el correo en la mesa» y noqueamos una región del mensaje veremos «Abre el correo en la mesa». El resultado de la acción sería diferente respecto de la acción original. Un *knockout* ligeramente diferente con un reemplazo podría resultar en «Abre el elefante y coloca el correo en la mesa». En este caso, la acción no se lograría porque la secuencia no tiene sentido. De forma similar, la eliminación o reemplazo de un pequeño fragmento de DNA puede generar un cambio de la expresión, incluyendo la finalización en la expresión de proteínas vitales.

Después de que el DNA es modificado, se añade a las células madre embrionarias, donde se recombina con el gen existente a nivel del cromosoma, eliminando o reemplazando parte de las instrucciones genéticas en la célula. Este proceso se denomina **recombinación homóloga,** como se observa en la Figura 7.12. De este modo, se modifican las células madre, luego se introducen en un embrión normal y finalmente se implantan en su madre. El RNA de interferencia (véase el Capítulo 2 para repasar) es también capaz de silenciar genes que se están usando como alternativa a la recombinación homóloga en múltiples aplicaciones.

Un organismo modificado genéticamente –generalmente una cría de ratón– no es el fin de la historia. Las crías procedentes del ratón son **quimeras.** Algunas de las células son normales y otras son *knockout.* La actividad de las células normales a menudo enmascara el déficit causado por la pérdida o el gen reemplazado. Se requieren dos generaciones de cruces para producir animales que sean completamente *knockout.* La recompensa vale la pena en términos de investigación genética. Cuando sabemos qué gen ha sido noqueado y vemos el resultado del cambio, tenemos una idea muy clara de la función de dicho gen. Y si sabemos lo que ocurre cuando un gen está dañado o ausente podremos conocer mejor trastornos genéticos, como la diabetes de tipo I, la fibrosis quística, la distrofia muscular y el síndrome de Down. Un buen



TÚ DECIDES

Monos *knockout*

ANDi es el primer paso en el camino del desarrollo de monos *knockout,* que podría ser el mejor animal modelo para el estudio de ciertas enfermedades y su tratamiento. Los primates modificados genéticamente podrían utilizarse para el estudio del cáncer de mama, el sida o cualquier enfermedad.

Nadie está de acuerdo en crear monos *knockout* como una meta científica. Algunos podrían señalar que los ratones, o incluso los peces cebra, comparten la mayoría de los genes humanos y han sido usados eficazmente en investigación. Otros argumentan que el mono *knockout* podría representar una amenaza para la salud pública, porque un patógeno podría dar el salto desde el estudio con animales hacia la población, donde podría expandirse. Además, afirman que el virus del sida ha sido un patógeno que de modo inesperado ha dado el salto desde los monos salvajes hacia el hombre. Otros se muestran incómodos con el empleo de primates en cualquier investigación. Ellos argumentan que precisamente esos primates son como nosotros, y comparten nuestra misma conciencia, lo que hace dicha investigación éticamente repugnante.

¿Tú que opinas? ¿Deberíamos fomentar el desarrollo de monos *knockout*? ¿O los primates están tan estrechamente relacionados con el hombre que no pueden utilizarse con dicho fin? Tú decides.

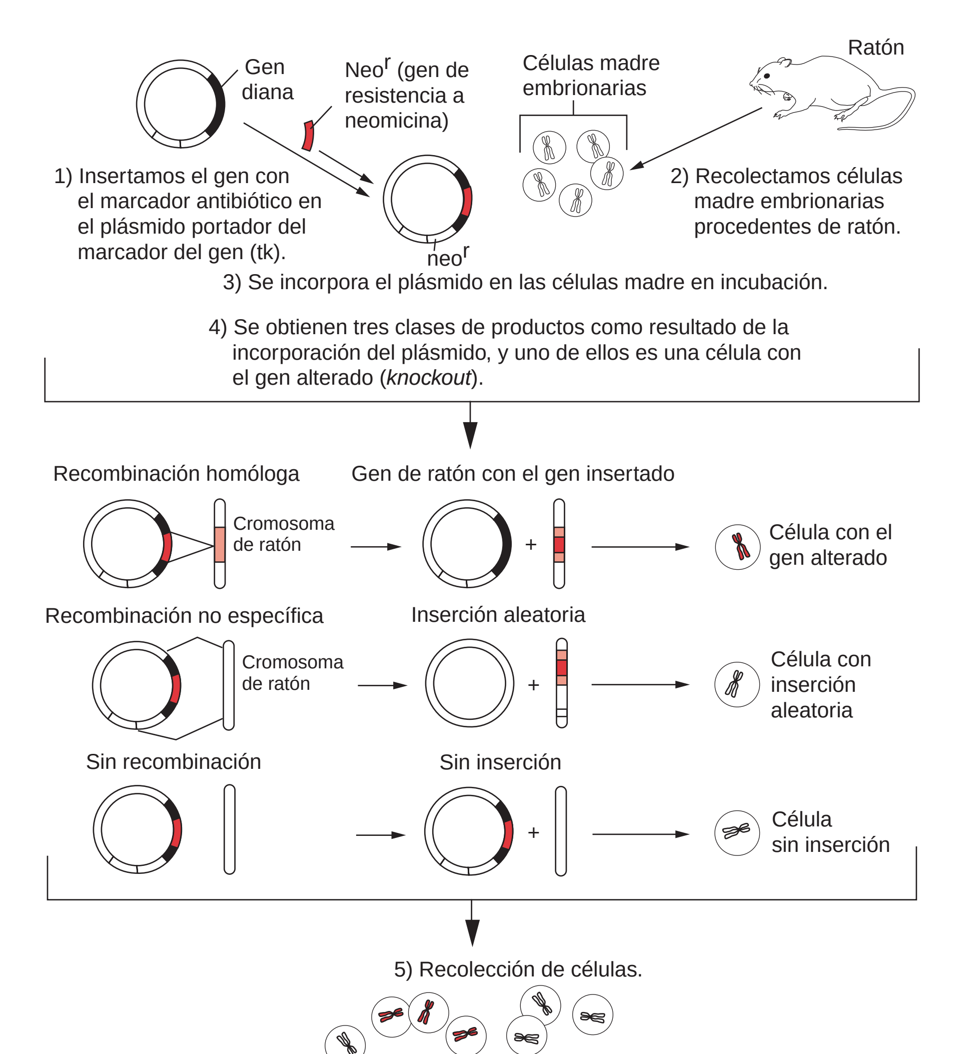




Figura 7.12 Cómo hacer un ratón *knockout* Transfiriendo un gen marcador (con resistencia a neomicina) en un ratón diana mediante recombinación homóloga alteramos la función de un gen, permitiendo la selección para ese gen alterado. La timidina quinasa (tk) se emplea para seleccionar las células transformadas porque las células con el gen insertado morirían en presencia de un nucleótido alterado durante la síntesis de DNA. Después de la selección, las células con el gen alterado pueden ser insertadas en embriones de ratón para producir ratones con este gen «*knockout*». Mediante métodos similares, es posible «*knock-in*» otro gen (como un gen humano) para evaluar el gen en un animal de ensayo.

ejemplo de ello es el ratón de cáncer de mama, el cual fue patentado en 1988 por científicos de la Universidad de Harvard y se ha usado profusamente en la prueba de fármacos y terapias contra dicho cáncer (con un mínimo o nulo coste para los investigadores). La posibilidad de probar nuevas terapias en ratones con cáncer de mama antes que en pacientes humanos, ha salvado la vida de muchos pacientes reduciendo horas de sufrimiento innecesario.

En la actualidad es habitual comparar el efecto de un fármaco potencial en animales *knockout* y animales *knock-in*. Estos últimos pueden contener un gen humano insertado que reemplace el propio mediante recombinación homóloga para convertirse en animales *knock-in*. En un ratón *knockout*, un fármaco tendría efectos mínimos o nulos, puesto que el producto del gen no está presente, pero sí tendría efectos en un ratón *knock-in* debido a la presencia del gen humano reemplazado. Si se observan los efectos del fármaco en el ratón *knockout*, estarían fuera de su diana y podrían representar efectos potenciales secundarios con el fármaco candidato (evitando el sufrimiento de testarlos en humanos). Hasta ahora, ratones y peces cebra son los animales que se emplean más como *knockout*. La investigación también se está llevando a cabo en primates *knockout*. Los primeros pasos hacia el desarrollo de potenciales animales modelos de un valor incalculable, ha dado hasta ahora como resultado monos modificados genéticamente.

Investigadores de la Universidad de Ciencias de la Salud en Oregon, en Portland, han introducido el gen de la proteína verde fluorescente en un mono rhesus llamado ANDi (el nombre le viene de DNA insertado, deletreado al revés). El gen de la GFP, el cual tiene origen en las medusas, no hace brillar a ANDi en la oscuridad. De hecho, parece exactamente igual a un mono rhesus normal. Se requiere un microscopio especial para ver el brillo de las células de ANDi. Nadie está de acuerdo con la idea de emplear monos en investigación, incluso teniendo en cuenta su considerable similitud biológica con los humanos. La demostración de que un gen pueda ser insertado en monos fue el mayor logro para demostrar que funciona en animales superiores, aunque nunca dé como resultado una aplicación médica importante.

7.5 Producción de anticuerpos humanos en animales

En el Capítulo 4, hemos revisado el valor de los anticuerpos en la lucha contra las enfermedades. El poder de los anticuerpos hace de ellos uno de los productos proteicos más valiosos. Pero primero vamos a ver cómo se producen los anticuerpos empleando animales como biorreactores.

Anticuerpos monoclonales

Los investigadores han soñado durante mucho tiempo con el aprovechamiento de la especificidad de los anticuerpos para gran variedad de usos. El empleo de anticuerpos-diana como recurso fue conceptualizado en 1980 como «balas mágicas», un tratamiento que podría buscar y destruir de forma efectiva células tumorales en cualquier lugar donde se localicen. Una de las mayores limitaciones en el empleo terapéutico de los anticuerpos es la producción de un anticuerpo específico en grandes cantidades. Inicialmente, los investigadores probaron con **mielomas**, que producen anticuerpos frente a tumores, con objeto de producir anticuerpos útiles. Pero carecen de la manera de programar el mieloma para desarrollar anticuerpos con determinadas especificaciones. Esta situación cambió drásticamente con el desarrollo de la tecnología de anticuerpos monoclonales. La Figura 7.13 ilustra el procedimiento para la producción de anticuerpos monoclonales (hechos a partir de un clon celular).

En primer lugar, se inocula a un ratón o rata el antígeno (Ag) para el cual queremos obtener el anticuerpo. Después el animal produce una respuesta inmune frente a los antígenos a nivel del bazo. Los anticuerpos son producidos por células del bazo o bien por linfocitos. Las células del bazo se fusionan en masa dando lugar a un mieloma celular especializado que no produce más anticuerpo que el suyo propio. El resultado son células fusionadas, o hibridomas, que preservan las propiedades de las líneas parentales. Éstas crecen de forma continua y rápidamente en cultivo como un mieloma celular (canceroso), y producen anticuerpos específicos a partir de las células fusionadas con linfocitos en el animal inmunizado. Se producen cientos de hibridomas a partir una única fusión. Los hibridomas son sistemáticamente revisados para identificar el clon que produce grandes cantidades del anticuerpo de interés. Una vez que el anticuerpo ha sido identificado, éste puede ser producido en grandes cantidades.

Los productos de los anticuerpos monoclonales se utilizan para tratar el cáncer, enfermedades de corazón, el rechazo en trasplantes, pero el proceso no está completamente dilucidado. Una limitación inicial en el éxito de anticuerpos terapéuticos es la inmunogenicidad. El método clásico para la producción de anticuerpos monoclonales en hibridomas de ratón provocó una respuesta inmune en pacientes humanos. Los hibridomas de ratón producen suficientes antígenos de ratón, que provocaron una respuesta inmunitaria no deseada en humanos. Los investigadores la han denominado como **respuesta de anticuerpos humanos frente a anticuerpos de ratón (HAMA;** *human anti-mouse antibody response*). Los pacientes que eliminaron rápidamente los anticuerpos de ratón para ver sus efectos terapéuticos, vivieron un corto período de tiempo. La solución es desarrollar anticuerpos monoclonales más humanos. La eliminación de los antígenos de ratón o la creación de quimeras de ratón y humano es un proceso costoso y a largo plazo, y da como resultado anticuerpos monoclonales que retienen proteínas de ratón y capaces de provocar el HAMA. Los investigadores están trabajando para solucionar el problema de la respuesta HAMA y producir anticuerpos monoclonales en diferentes organismos, como se muestra en la Tabla 7.1. Actualmente, hay 17 anticuerpos monoclonales aprobados por la FDA (en 2006). Tres de estos anticuerpos han sido diseñados de modo que reduzcan su inmunogenicidad, y la mayoría contienen secuencias genéticas humanas. Los ratones transgénicos productores de anticuerpos monoclonales humanizados están bajo estudio en al menos 33 ensayos.

La FDA aprobó la producción del primer anticuerpo producido en animales, que no activa el sistema inmune en humanos frente al rechazo en 2007. Panitumab, producido a partir de ratones transgénicos con genes humanos, fue fabricado por Amgen en Thousand Oaks, California. El proceso requería la inactivación de la maquinaria productora de anticuerpos en ratón (las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos), y la introducción de sus equivalentes humanos para dichos anticuerpos, mediante recombinación homóloga con la inactivación (eliminación) de dichas regiones. El trabajo se realizó en células madre embrionarias de ratón, y se introdujo en embriones de ratón con objeto de producir animales fundadores. Los ratones transgénicos (xenorratones) producen anticuerpos humanos frente al receptor de crecimiento epidérmico (como tratamiento para el cáncer colorrectal avanzado), que puede ser purificado y no produce una respuesta HAMA.

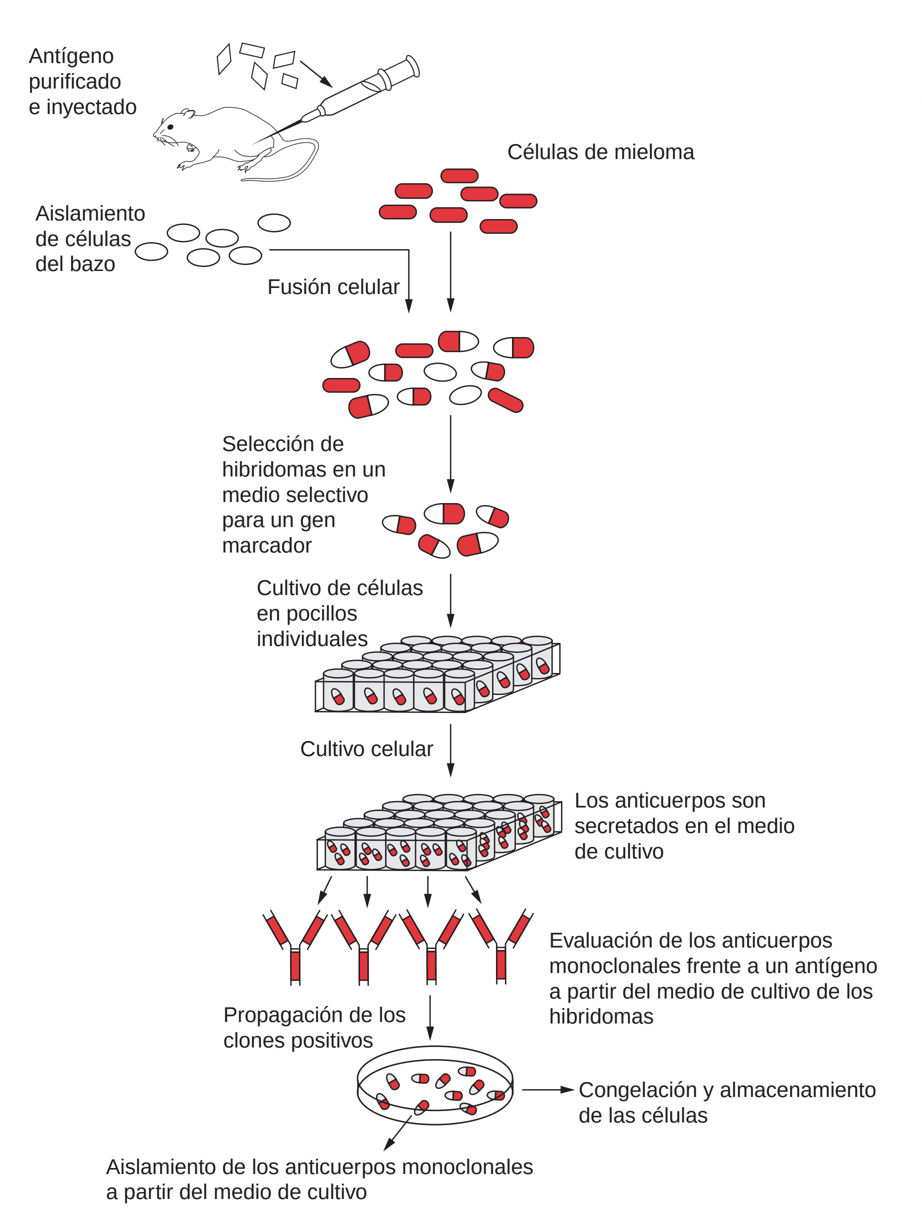


Figura 7.13 Producción de anticuerpos monoclonales Un ratón estimulado con antígenos proporcionará células del bazo que pueden ser fusionadas con células de mieloma (cáncer) para producir de forma continua anticuerpos monoclonales en cultivo.

Tabla 7.1 COMPARACIÓN DE LOS DIFERENTES CLONES TRANSGÉNICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOPRODUCTOS

Fuente	% proteína cruda	(kg/año)	Proteína (€/g)	Escala de tiempo (año)	Coste instalaciones (€)	Aprobaciones previas	Futuro
Huevo de gallina	10	0,06/hen	0,014	_	1 millón	Vacunas	Mabs*
Cerdos	_	_	_	3-8	?	Carne de cerdo	Mabs*, xenoorganismos
Ganado	_	_	_	1-2	?	_	Prot. sanguíneas
Maíz	8	0,05/acre	0,73	1-2	?	Sirope de maíz	Mabs*

*Mabs: anticuerpos monoclonales.

PERFIL PROFESIONAL

Técnicos animales y veterinarios

Los técnicos en animales asisten a los científicos que utilizan animales de laboratorio o de granjas en investigación biotecnológica o pruebas de productos. Llevan a cabo procedimientos médicos en animales y cuidan a estos animales de investigación antes y después de una cirugía; también desempeñan labores quirúrgicas. Los técnicos no sólo controlan los animales durante el examen o inoculación, sino que también participan en la observación diaria de los animales, y su reproducción y destete. Mantienen un registro detallado de la salud animal, la cual es una parte muy importante en su trabajo. Establecen protocolos operativos estándar en el manejo de animales durante su trabajo.

Los técnicos generalmente tienen una titulación en ciencias veterinarias o estudios similares. El conocimiento en ciencias biológicas y matemáticas es preferente en su formación. Muchos puestos de biotecnológos prefieren o requieren que los solicitantes se encuentren acreditados por la Asociación Americana de Animales de Ciencias de Laboratorio (AALAS; Association for Laboratory Animal Science). Para más información sobre AALAS, visita su página web: www.aalas.org.

El salario depende de la cualificación; los técnicos deben estar dispuestos a trabajar noches, fines de semana y vacaciones (porque los animales requieren cuidados diarios). La mayoría de las empresas ofrecen excelentes beneficios, horarios flexibles y posibilidad de continuar su formación. Se pueden hacer horas extra en esta clase de puesto laboral.

Los veterinarios juegan un papel fundamental en la salud y cuidado de todo tipo de mascotas, ganado, animales de zoológico, animales para la práctica deportiva o de laboratorio. Algunos veterinarios usan sus habilidades para proteger a los humanos frente a las enfermedades de los animales, así como también dirigen estudios relacionados con la investigación clínica en la salud de humanos y animales. Otros trabajan en investigación básica, ampliando el conocimiento fundamentalmente teórico, y su aplicación en investigación, con el desarrollo de nuevos métodos para aplicar dichos conocimientos.

Los futuros veterinarios deben graduarse a partir de un programa de cuatro años y acreditarse en un colegio de veterinarios como doctor en medicina veterinaria, y de este modo obtener la licencia para ejercer. Todos estos puestos requieren un número significativo de créditos durante su formación. La admisión en las escuelas de veterinaria está restringida, uno de cada tres solicitantes fue admitido en 1998. Los veterinarios que buscan una certificación más amplia en una especialidad deben completar una residencia de 2 a 3 años en programas que les proporcionan una formación intensiva en su especialidad, como medicina interna, oncología, radiología, cirugía, dermatología, anestesiología, neurología, cardiología, oftalmología y medicina en animales exóticos. El salario medio anual de los veterinarios era de 44.000 euros en el año 2000.

Huevos como factorías productoras de anticuerpos

Como ya hemos apuntado, los huevos pueden ser reservas de proteínas valiosas. Así, las proteínas extraídas de huevos son especialmente útiles para la mejora del crecimiento de pollos.

Durante más de 50 años, se han utilizado los antibióticos como hormonas de crecimiento en gallinas y otras especies animales. Incluso se piensa que estos fármacos ayudan a los animales a incrementar su peso, haciéndolos más provechosos. Sin embargo, ciertos estudios han demostrado que el uso inadecuado de antibióticos en animales puede producir resistencias frente bacterias que son peligrosas y potencialmente letales cuando son transmitidas a humanos. Los investigadores ahora están estudiando el uso de anticuerpos policlonales a partir de huevos para incrementar el crecimiento de los pollos con antibióticos evitando sus riesgos.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. ¿Por qué se usan en las células procedentes de mielomas los hibridomas?
2. ¿Por qué el sistema inmunitario humano rechazaría un anticuerpo producido en un ratón?
3. ¿Cómo hacen las empresas biotecnológicas productoras de anticuerpos para no estimular la respuesta tipo HAMA?
4. Habla de alguna de las inquietudes éticas relacionadas con el empleo de animales en investigación, incluyendo su justificación.
5. ¿Cómo los animales *knock-out* y *knock-in* nos ayudan a predecir el funcionamiento de un fármaco en humanos?
6. Explica el uso de la hipertermia en el tratamiento de cáncer en animales.
7. ¿Por qué se suelen utilizar los peces cebra en ensayos de fármacos humanos?
8. Explica el uso de los anticuerpos monoclonales.
9. Explica el concepto de «reducción, recambio y refinamiento» en el uso de animales en investigación biológica.
10. Explica la transferencia mediada por esperma como método transgénico.

Bibliografía y lecturas complementarias

Chan, A. W., Chong, K. Y., Martinovich, C., et al. (2001). Transgenic Monkeys Produced by Retroviral Gene Transfer into Mature Oocytes. *Science,* 291: 309–312.

Choi, C. (2006). Old MacDonald's Pharm. *Scientific American,* 295: 24.

Lewis, R. (2001). This Little (Cloned) Piggie Went to Market. *The Scientist,* 14: 10.

Lonberg, N. (2005). Human Antibodies from Transgenic Animals. *Nature Biotechnology*, 23: 1117–1125.

McCoy, H. (2001). Zebrafish and Genomics. *GEN,* 21: 1.

Morrow, K., Jr. (2000). Antibody Production Technologies. *GEN,* 20: 1.

Rainard, P. (2005). Tackling Mastitis in Dairy Cows. *Nature Biotechnology*, 23: 430–432.

Sedlak, B. (2001). Anticancer Tools and Techniques. *GEN,* 21: 1.

Shah, A. (2004). Mouse Model Makeovers Knock Genes Around. *Drug Discovery and Development*, 44–48.

Van Cott K. E., and Velander, W. H. Transgenic Animals as Drug Factories: A New Source of Recombinant Protein Therapeutics. Pharmaceutical Engineering Institute, Department of Chemical Engineering, Virginia Tech, Blacksburg, VA 24061, USA.

Waters, D. J., and Wildasin, K. (2006). Cancer Clues from Pet Dogs. *Scientific American,* 295: 94–101.

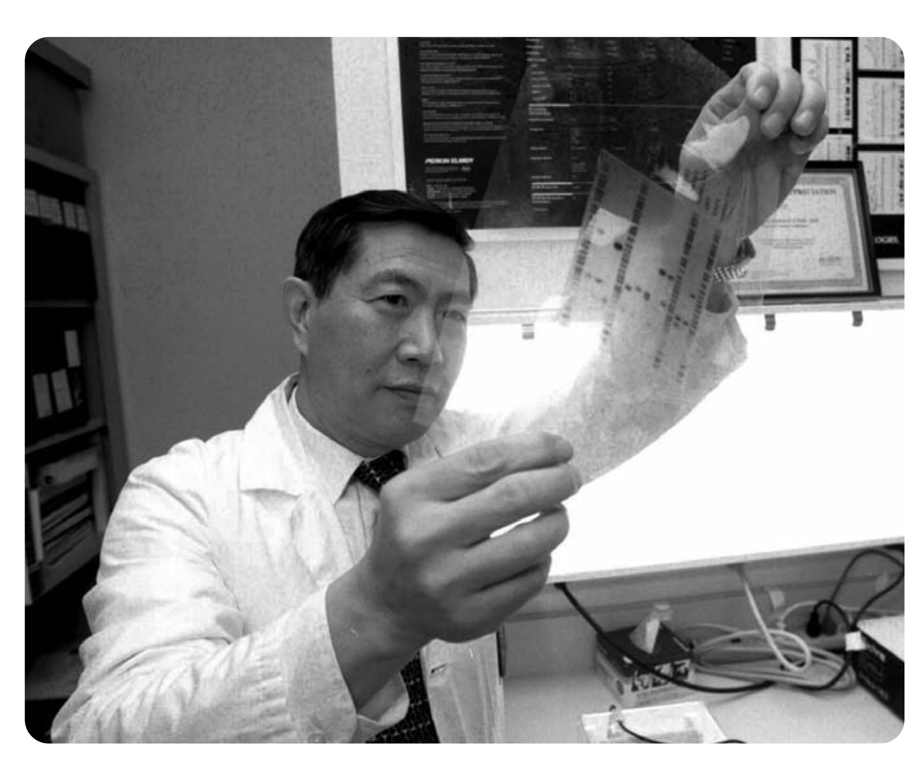
En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo **8**

Huella genética y análisis forense

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Definir huella genética.
- Esquematizar el proceso de toma y preparación de una muestra de DNA que se utilizará como prueba.
- Citar algunos factores que pueden degradar las muestras de DNA y algunas de las precauciones necesarias para mantener la fiabilidad de las pruebas de DNA.
- Describir los pasos de los análisis de RFLP.
- Describir el método de la PCR.
- Explicar cómo se comparan y evalúan las huellas genéticas.
- Comparar dos o más huellas genéticas para determinar si se corresponden.
- Describir el uso de las técnicas de análisis de DNA para establecer relaciones familiares.
- Enumerar algunos de los usos del análisis de DNA en investigación biológica.
- Discutir algunos aspectos éticos relacionados con las pruebas de DNA.



Un biotecnólogo examina las huellas de DNA en busca de similitudes y diferencias entre los individuos.

8.1 Introducción al análisis del DNA y a la medicina forense

La **ciencia forense** es la intersección entre la ley y la ciencia. Puede ser utilizada para condenar a los culpables o exonerar a los inocentes, y también puede usarse para ayudar a recrear delitos. Muchos casos judiciales dependen de las pruebas científicas. A lo largo de los años, los científicos han desarrollado nuevas tecnologías para descubrir los hechos en las investigaciones penales, y la ley se ha adaptado rápidamente a estas tecnologías a medida que han estado disponibles.

Por ejemplo, a finales de 1800, los esfuerzos para luchar contra la delincuencia recibieron un impulso de una nueva tecnología: la fotografía. Gracias a la invención de la cámara, fue posible representar a los delincuentes en prisión con tanta precisión que estas imágenes podrían ser utilizadas más tarde como referencias. Las fotografías fueron sin duda una mejora con respecto a las descripciones verbales y los carteles de «se busca» dibujados a mano, pero aún existían importantes limitaciones. Los delincuentes encontraban muchas maneras de modificar su aspecto (corte de pelo, barba, uso de gafas) que podía hacer la identificación basada en una fotografía casi imposible.

Hace un poco más de 100 años, los científicos descubrieron que los pequeños arcos y espirales en la piel de las yemas de los dedos podían ser utilizados para establecer la identidad. Después de que una única huella ensangrentada encontrada en la parte inferior de una caja registradora ayudara a resolver un asesinato en Inglaterra, el proceso de tintar los dedos de un sospechoso y recoger un conjunto de huellas se convirtió en rutina. La Oficina Federal de Investigaciones (FBI), la Agencia Central de Inteligencia (CIA), y otros organismos de aplicación de la ley amasaron enormes colecciones de estas huellas. Al principio, los empleados fueron responsables de examinar cuidadosamente las huellas de forma visual, en busca de coincidencias. Con el desarrollo de los ordenadores, sin embargo, el proceso de selección se hizo menos tedioso y más fiable. Pero las huellas digitales no están siempre disponibles. Las huellas dactilares pueden eliminarse, y se pueden usar guantes para no dejar huellas.

En 1985, una nueva tecnología revolucionaria emergió como una importante herramienta forense. En lugar de contar las huellas digitales dejadas en la escena del crimen, los investigadores podrían mirar un nuevo tipo de «huella digital», la huella única encontrada en la composición genética de cada individuo. En este capítulo, describiremos las huellas genéticas de DNA y discutiremos lo que hace al DNA de cada persona único. Más adelante estudiaremos los procesos utilizados para recoger muestras de DNA y producir perfiles genéticos para su análisis. Compararemos perfiles de DNA y aprenderemos qué se necesita para que coincidan dos huellas genéticas. A continuación, se considerarán algunos de los casos más conocidos en los que intervinieron las pruebas de DNA, los asesinatos de los Simpson y de los Goldman, que ilustran el valor –y la vulnerabilidad– de las pruebas de DNA. Después se estudiará cómo se pueden usar los perfiles de DNA para establecer relaciones familiares, centrándose en el uso del DNA mitocondrial para probar una relación de parentesco. Por último, debido a que los perfiles de DNA no se limitan a los seres humanos, nos fijaremos en el uso del análisis de DNA para establecer el origen de valiosos cultivos vegetales, para ayudar a cumplir las leyes de protección de la vida salvaje, y para llevar a cabo investigaciones biológicas.

8.2 ¿Qué es la impronta genética?

Sabemos que cada ser humano tiene un conjunto único de genes. La estructura química del DNA es siempre la misma, pero el orden de los pares de bases en los cromosomas difiere entre los individuos. El ensamblaje original de los 3 mil millones de nucleótidos organizados en 23 pares de cromosomas confiere a cada uno de nosotros una identidad genética única.

También sabemos que cada célula contiene una copia de DNA que define el organismo como un todo, incluso cuando las células individuales tienen diferentes funciones (las células musculares cardiacas mantienen el latido del corazón, las neuronas transmiten las señales que son nuestros pensamientos, los linfocitos T combaten las infecciones, etc.). Estos dos aspectos del DNA –el carácter uniforme del DNA en un solo individuo y la variabilidad genética entre los individuos– hacen que la huella genética sea posible. Debido a que todas las células del cuerpo comparten el mismo DNA, las células recogidas del interior de la mejilla de una persona van a ser una copia perfecta de los glóbulos blancos de la sangre, de las células de la piel o de otros tejidos.

¿Cómo se realiza un análisis de DNA?

Sólo una décima parte del 1 porciento del DNA (alrededor de 3 millones de bases) difiere entre las personas. Estas regiones variables pueden generar el perfil de DNA de un individuo, utilizando muestras de sangre, huesos, cabello y otros tejidos del cuerpo. En las causas penales se requiere, por lo general, obtener muestras de la escena del crimen y un sospechoso, extrayendo el DNA, y analizando la presencia de un conjunto de regiones específicas del DNA.

Hay dos tipos principales de pruebas forenses basadas en análisis del DNA: RFLP y PCR (reacción en cadena de la polimerasa). En general, las pruebas RFLP requieren grandes cantidades de DNA y que el DNA no esté degradado. Las muestras de la escena del crimen que son viejas o sólo están presentes en pequeñas cantidades son a menudo inadecuadas para las pruebas de RFLP. En condiciones de calor y humedad se puede acelerar la degradación del DNA haciendo que las muestras no sean aptas para RFLP en períodos relativamente cortos de tiempo.

Las pruebas basadas en la PCR requieren menos DNA que la RFLP y siguen siendo eficaces incluso si la mues-

tra está degradada parcialmente. Sin embargo, las pruebas basadas en la PCR son también muy sensibles a la contaminación de DNA en la escena del crimen y en el laboratorio. Ambos métodos son utilizados, aunque en situaciones diferentes. Discutiremos ambos.

Afortunadamente, no es necesario catalogar cada uno de los pares de bases del DNA de un individuo para obtener una huella genética única. Por el contrario, el análisis del DNA depende de una pequeña parte del genoma. Cada hebra de DNA está compuesta tanto de información genética activa, que codifica proteínas (estas regiones son conocidas como exones), como de DNA inactivo, que no codifica proteínas. Estas regiones inertes contienen secuencias repetidas de entre 1 y 100 pares de bases (véase el Capítulo 3). Estas secuencias, llamadas **repeticiones en tándem de número variable (VNTR),** son de gran interés en la determinación de la identidad genética. Cada persona tiene VNTR heredados de la madre y otros del padre. Ninguna persona tiene VNTR que sean idénticos a los de ninguno de los progenitores (esto sólo podría ocurrir como resultado de la clonación). En su lugar, los VNTR del individuo son una combinación de repeticiones de las regiones en tándem del DNA de los padres, como se ve en la Figura 8.1. La singularidad de los VNTR de un individuo proporciona el marcador científico de identidad conocido como huella genética.

Las pruebas de DNA normalmente se limitan a la detección de la presencia de microsatélites, que son repeticiones de uno a seis nucleótidos que están dispersos a lo largo de los cromosomas. Debido a que estas regiones repetidas pueden estar en muchos lugares del DNA, las sondas utilizadas para su identificación se complementan con las regiones de DNA que rodean a los **microsatélites** específicos que son analizados. El pequeño tamaño de estos segmentos repetidos dio lugar al término de ***short tandem repeat,*** o **STR (repeticiones cortas en tándem).** El FBI ha elegido 13 STR únicos para la detección de perfiles de DNA contenidos en su **Sistema de Índice Combinado de DNA,** o sistema **CODIS.**

8.3 Preparación de un análisis de DNA

Toma de muestras

Los investigadores de la escena del crimen buscan fuentes de DNA de forma rutinaria: ropa sucia, un sobre chupado, restos de un cigarrillo, una taza de café usada en el fregadero, o cualquier otra cosa que pueda ser una fuente de células humanas. Pequeñas manchas de sangre, manchas de semen seco, o un rastro de saliva es a menudo todo lo que se necesita para resolver un caso.

Cada ser vivo tiene DNA, por lo que cada escena del crimen está llena de fuentes de posible contaminación. Por esta razón, se requiere una atención escrupulosa a

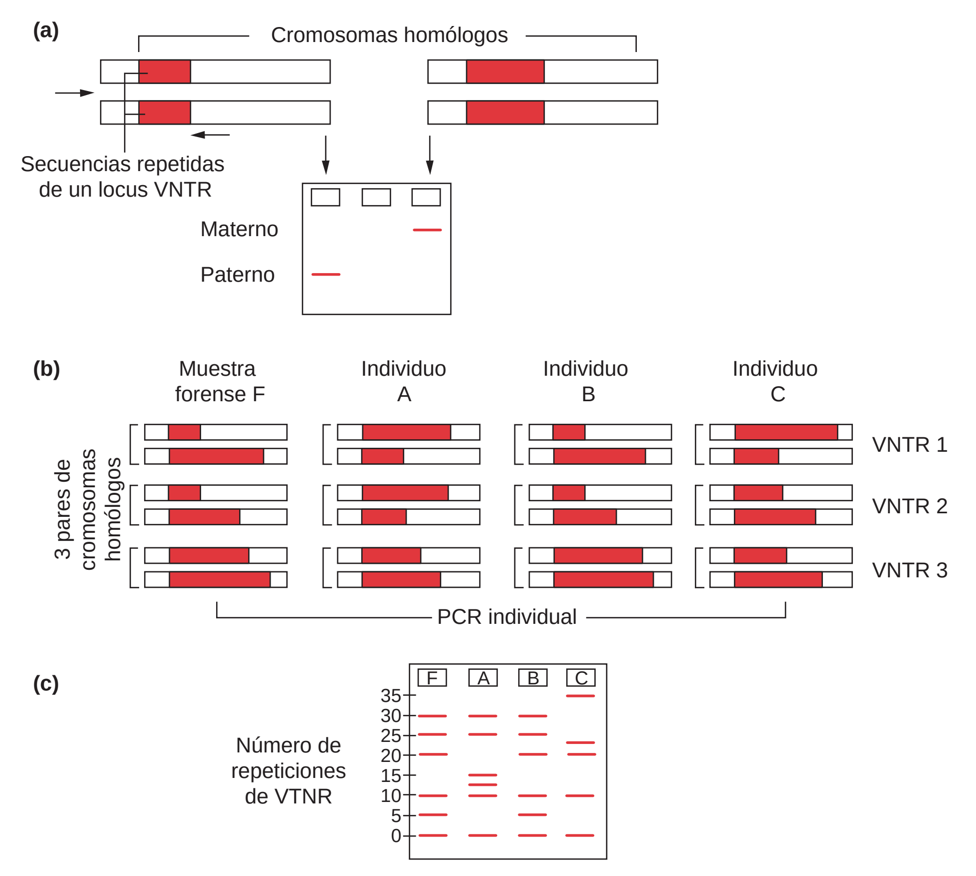


Figura 8.1 Repeticiones en tándem de número variable (VNTR) Una secuencia VNTR proviene de secuencias repetidas cortas, como por ejemplo GTGTGT. . . , que se encuentran en diversos lugares del genoma humano. El número de repeticiones en cada localización es muy variable en la población, yendo desde 4 a 40 en diferentes individuos, y son conocidas como microsatélites. (a) Cada individuo hereda generalmente una variante diferente de cada locus de VNTR de sus padres, por lo tanto, dos individuos no vinculados, por lo general, no contienen el mismo par de secuencias. La longitud del DNA, y su posición después de la electroforesis, depende del número exacto de repeticiones en el locus. Sólo el DNA entre las flechas (de 5' a 3' en cada cadena de DNA) será replicado por la PCR. (b) Se analizan los mismos tres loci de VNTR de tres individuos (A, B y C), dando seis bandas por persona. El patrón general es diferente para cada uno. Este patrón de bandas puede servir como "huella de DNA". Ten en cuenta que los individuos A y C pueden ser eliminados de nuevas investigaciones y el individuo B sigue siendo un claro sospechoso. (c) La huella genética real (bandas del gen de electroforesis) muestra la huella genética de cada individuo (date cuenta de que las cuatro bandas largas y las dos bandas cortas en la muestra F son 30, 25, 20, 10, 5, y cerca de cero).

los detalles, mientras se recopilan y conservan las pruebas. Para proteger las pruebas, los trabajadores de la escena del crimen deben tomar las siguientes precauciones:

- Usar guantes desechables y cambiarlos con frecuencia.
- Utilizar instrumentos desechables (como pinzas o torundas de algodón). Si no se dispone de instrumentos desechables, asegurarse de que se limpian a fondo antes y después de manipular cada muestra.
- Evitar hablar, estornudar y toser para evitar la contaminación con micro-gotitas de saliva.
- Evitar tocar cualquier cosa que pudiera contener DNA (como el rostro, la nariz o la boca) durante el manejo de pruebas.
- Secar las pruebas a fondo antes de empaquetarlas. El moho puede contaminar la muestra.

Se pueden consultar precauciones adicionales para proteger determinados tipos de pruebas en la web del FBI.

Los enemigos de las pruebas están en todas partes. La luz del sol y las altas temperaturas pueden degradar el DNA. Las bacterias, que realizan su función natural como descomponedoras, pueden contaminar una muestra antes o durante la toma. Además, las pruebas no deben ser almacenadas en bolsas de plástico porque pueden retener humedad perjudicial (existen bolsas diseñadas específicamente para prevenir el daño por humedad).

El análisis del DNA es un proceso comparativo. El DNA de la escena del crimen debe ser comparado con muestras de DNA conocidas de los sospechosos. La muestra ideal utilizada para comparar las pruebas es de 1 ml o más de sangre fresca total tratada con un agente anticoagulante llamado ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Esta cantidad de sangre total contiene una cantidad adecuada de leucocitos con DNA nuclear para el proceso. A diferencia de los eritrocitos que no tienen DNA nuclear, cada leucocito contiene una dotación normal de cromosomas humanos. Si no se puede obtener una muestra limpia como esta de la fuente conocida, no todo está perdido necesariamente se han recuperado y analizado con éxito DNA de muestras con una década de antigüedad, mediante la amplificación por PCR del DNA utilizado para la comparación.

Extracción de DNA para su análisis

Después de obtener una muestra de una fuente conocida, un técnico de laboratorio es responsable de determinar su composición genética. En primer lugar, el técnico extrae el DNA de la muestra. El DNA puede ser purificado o bien químicamente (usando detergentes que eliminan el material celular no deseado) o mecánicamente (usando presión para forzar al DNA a salir de la célula). Una vez extraído el DNA, el técnico debe seguir varios pasos para transformar la huella única de ese DNA en una evidencia visible.

Análisis de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

Debido a que llevaría mucho tiempo analizar 3 billones de pares de bases, se usa un método que se centra en VNTR. Para aislar los VNTR, el DNA es tratado con una enzima llamada **endonucleasa de restricción** que marca y corta la hélice de DNA donde quiera que aparezca una secuencia específica en las cadenas de DNA (como se describe en el Capítulo 3 y se muestra en la Figura 8.2). Este proceso se denomina **polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP).** Las endonucleasas de restricción utilizadas se encuentran en bacterias como *E. coli,* donde se producen como parte del sistema de defensa natural de las bacterias contra infecciones virales. Hay cientos de endonucleasas de restricción, y cada una reconoce una secuencia diferente. Mediante el uso de varias de estas enzimas, ya sea en secuencia o en combinación, la cadena de DNA puede ser cortada en fragmentos para su comparación.

Después de que el DNA es fragmentado, los técnicos usan la electroforesis para separar las piezas. Recuerda del Capítulo 4 que en la electroforesis, los fragmentos de DNA con carga negativa migran a través del gel hacia un electrodo cargado positivamente. El movimiento de los fragmentos es frenado por los poros del gel. Los fragmentos más pequeños, más ligeros, avanzan más rápidamente, por lo que migran más lejos a través del gel. El resultado es un gel con DNA ordenados en función del tamaño de los fragmentos genéticos. A continuación, el gel se trata químicamente o se calienta para desnaturalizar el DNA y deshacer la doble hélice, dejando dos hebras sencillas. Una sola cadena de DNA es capaz de unirse a las sondas de cadena sencilla que pueden usarse para la detección de secuencias únicas de DNA.

La técnica de *Southern blot*

Después de que el DNA se separe y ordene por electroforesis, los técnicos transfieren los fragmentos del gel a una membrana de nitrocelulosa o nylon. El proceso de transferencia se conoce como técnica de *Southern blot,* que se discutió en detalle en el Capítulo 3. La membrana «absorbe» el DNA del gel como una servilleta absorbe una mancha, pero con mucha más precisión. El ordenamiento y la posición exacta de los fragmentos cortados de DNA se conserva en la membrana de transferencia (en otras palabras, la «huella genética»), como se ve en la Figura 8.3.

Después de que el DNA se fije permanentemente a la nitrocelulosa o a la membrana de nylon, la membrana se incuba con una pequeña cadena radiactiva (o fluorescente) de DNA complementario, llamada *sonda.* Las sondas son fragmentos de cadena sencilla de DNA o RNA que contienen el código complementario para una secuencia específica de bases (por lo general 17 o más). El área marcada sobre la muestra de DNA se denomina *locus.* Una **sonda de locus único** se dirige a una se-

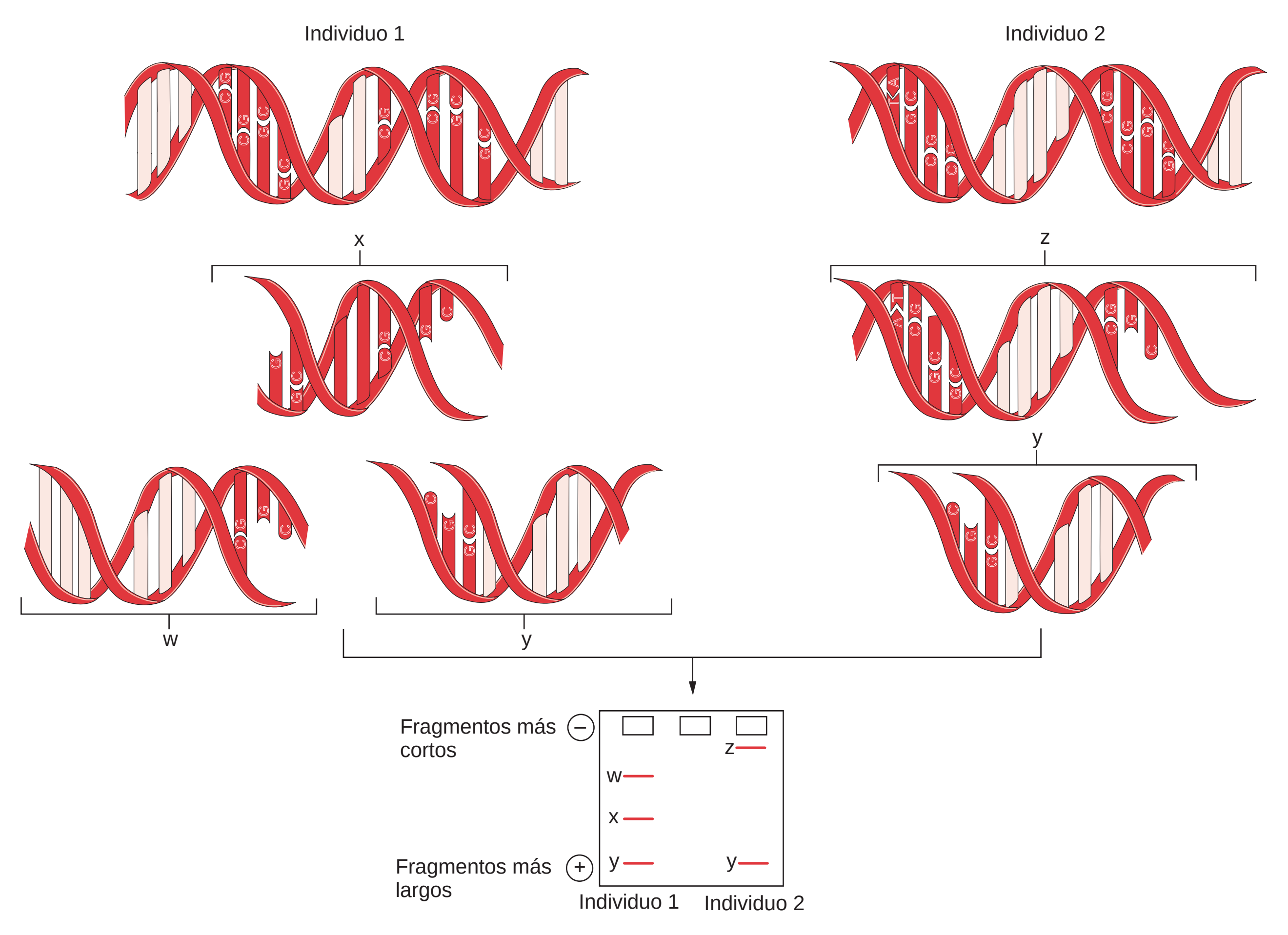


Figura 8.2 Bandas de DNA creadas por el corte con enzimas de restricción en sitios específicos Las enzimas de restricción reconocen secuencias cortas de nucleótidos donde cortan el DNA. Observa cómo la enzima ha reconocido dos sitios de corte en la secuencia de DNA (produciendo tres fragmentos) del individuo 1, pero, debido a una mutación, ha reconocido sólo una secuencia en el individuo 2 (produciendo sólo dos fragmentos). El patrón de electroforesis en el gel (huella genética) por debajo de los diagramas de DNA muestra que los dos cortes producen tres bandas (w, x, y) en tres lugares, y un corte produce sólo dos bandas (y, z, siendo z considerablemente mayor que y). Más bandas producidas a partir de un mayor número de enzimas puede ser suficiente para distinguir individuos de forma fiable (comparado con su población cultural).

cuencia que aparece en una sola posición en el genoma, como se muestra en la Figura 8.4. Se pueden utilizar juntas varias sondas de locus único. Por el contrario, una **sonda multilocus** se une a las secuencias en muchos lugares del genoma (las ventajas de ambos se describen más adelante). La unión de un fragmento de DNA con su sonda complementaria se llama *hibridación.* Los puentes de hidrógeno hacen posible la fusión de los dos. Debido a que los puentes de hidrógeno son más exigentes, la sonda sólo se une a fragmentos complementarios. Después de la hibridación, cualquier parte de la sonda que no se haya unido con el DNA de la muestra se elimina por lavado.

Ahora viene la parte del proceso que proporciona una evidencia visible. Una película de rayos X (o fotográfica) se coloca sobre la nitrocelulosa. Debido a que el DNA diana es radiactivo (o fluorescente) y emite partículas gracias a la sonda, se forma una imagen en la película fotográfica. Esta imagen, llamada autorradiografía (o autorad), se parece un poco a un código de barras. Cada muestra de DNA produce una imagen de bandas situadas en posiciones específicas. Entonces es posible comparar dos o más autorradiografías para ver si las bandas coinciden. Los patrones producidos dependen de las sondas utilizadas. Una sonda de locus único produce un patrón de sólo una o dos bandas. Esta o estas dos bandas de información genética pueden ser debidas a una coincidencia al azar alrededor de 1 por cada 10.000 casos (dependiendo de la población utilizada para la comparación). Una sonda multilocus proporciona un perfil genético más detallado. El resultado puede ser una imagen que incluya más de 40 bandas para comparar. Las probabilidades de que las muestras de DNA de dos personas coincidan en las 40 o más bandas es astronómicamente baja (suponiendo que las dos personas no sean gemelos idénticos).

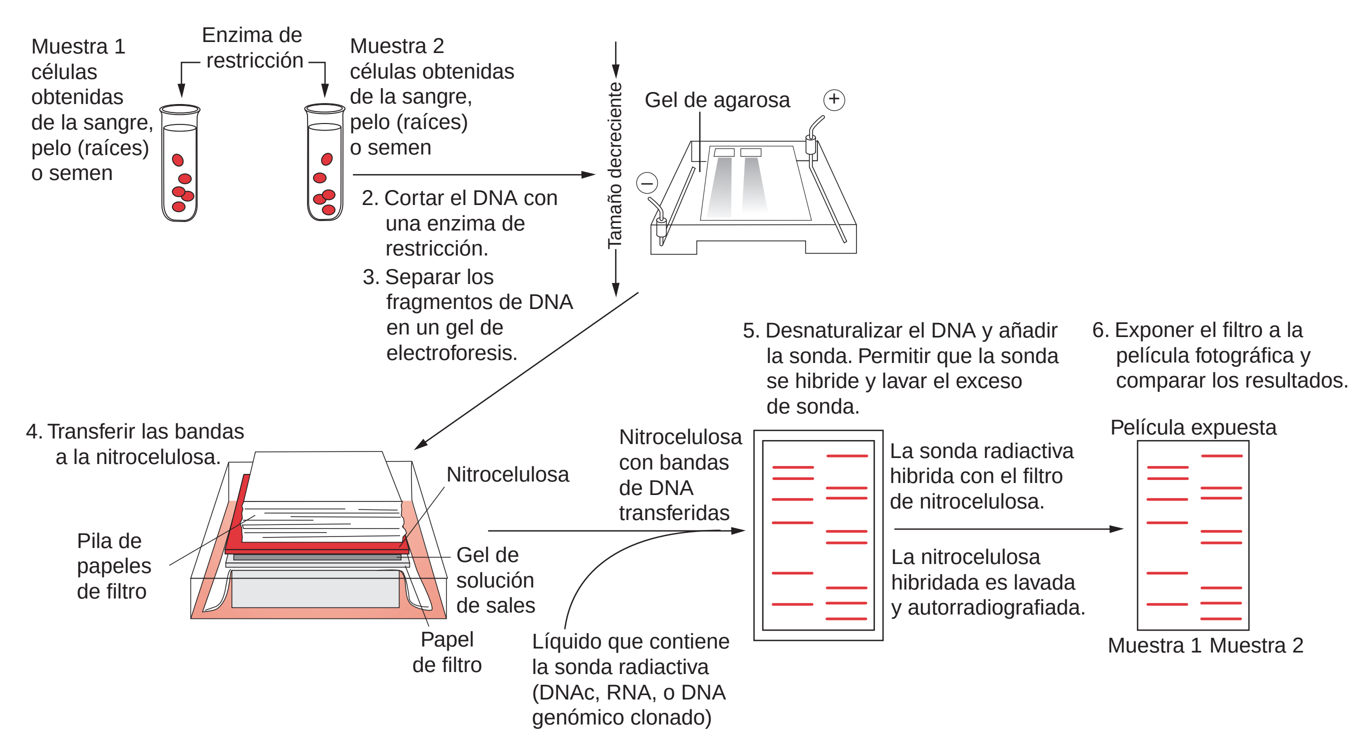


Figura 8.3 Protocolo de análisis de DNA por RFLP El resultado de este experimento indica que las dos muestras provienen de individuos diferentes (incluso una banda distinta representa la diferencia). Los detalles de la técnica de *Southern blot* se presentan en el Capítulo 3 (Figura 3.15).

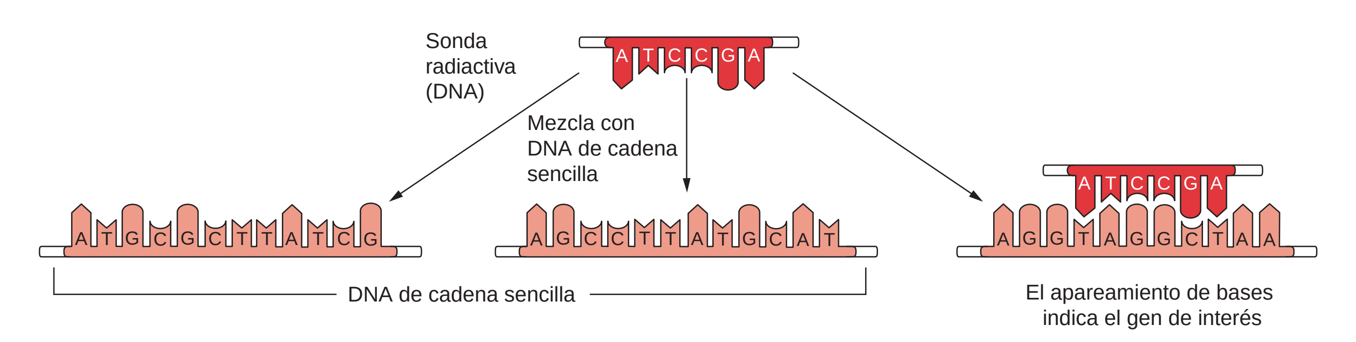


Figura 8.4 Autorradiografía del DNA La sonda de DNA es una secuencia corta de DNA generalmente de 11 o más bases de longitud (calcular el número de combinaciones posibles de 4 bases en una secuencia de 11... es poco probable que ocurra al azar). Si la sonda se une al DNA que lleva un marcador fluorescente (o radiactivo) por apareamiento de bases complementarias, el marcaje del DNA podrá visualizarse, y la luz emitida expuesta sobre la película fotográfica, creará una autorradiografía con un patrón distintivo.

Los RFLP no se utilizan tanto como antes en análisis humanos, ya que requieren relativamente grandes cantidades de DNA. Agentes contaminantes, tales como la suciedad o el moho, interfieren con el análisis de RFLP de una muestra determinada de DNA, lo que reduce la utilidad de la técnica.

PCR y amplificación de DNA

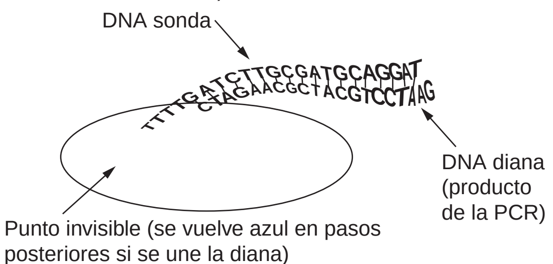
Para hacer un análisis de RFLP se requieren varios miles de células, más de lo que a menudo puede recogerse en la escena del crimen. Imaginemos un caso en el que la única prueba es la saliva en la solapa de un sobre o una mancha de sangre invisible a simple vista. En esos casos, se puede utilizar la PCR para «hacer crecer» o amplificar la muestra en una cantidad que pueda ser analizada.

La PCR es muy similar a una fotocopiadora de DNA. El primer paso consiste en localizar las regiones de DNA que pueden ser útiles para la comparación. El instrumento para encontrar las regiones de cada hebra de DNA en dirección 5´ a 3´ son los cebadores o pequeñas secuencias de DNA (ver las flechas en la Figura 8.4). Se comportan como sondas y buscan secciones complementarias del DNA. Una vez que se encuentra el segmento complementario de DNA, comienza a copiarse utilizando un aparato llamado *termociclador,* como se ilustra en la Figura 3.8 y descrito en el Capítulo 3. Con la ayuda de la enzima *Taq* polimerasa y nucleótidos de DNA, varios ciclos de calor y frío hacen que el DNA se separe y se replique repetidas veces. En unas tres horas, el segmento de DNA puede ser aumentado millones o billones de veces. Este rápido crecimiento presenta un posible problema. Desgraciadamente, la PCR es muy sensible a la contaminación y un pequeño error en la escena o en el procedimiento del laboratorio puede dar lugar a la duplicación de una muestra de DNA inútil millones de veces.

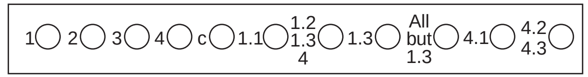
Análisis de hibridación puntual o en ranura (*Dot blot/slot blot*)

Suponiendo que la muestra es buena, ahora es el momento de realizar su análisis. Debido a que el DNA producido utilizando la técnica de PCR es idéntico a la muestra original, la electroforesis no es necesaria para clasificarlo y separarlo. En cambio, el DNA se aplica sobre unas tiras especialmente preparadas. Cada punto de la tira contiene diferentes sondas de DNA a partir de DNA humano (antígeno leucocitario humano, o HLA). Las sondas de DNA presentes en los «puntos» de la tira de nitrocelulosa se unen a un complejo enzimático que puede convertir un sustrato incoloro en uno coloreado siempre que haya unión. En este caso, las sondas no son radiactivas, sino más bien reactivas químicamente, y más fáciles de desarrollar que los RFLP. Si el DNA humano se une a su sonda complementaria en la tira, el punto cambia de color, como se muestra en la Figura 8.5. El *kit* de tipaje hibridación puntual de PM + DQA1 (PE Applied Biosystems) marca seis loci genéticos. Los seis son copiados en la PCR inicial. Los productos de esta reacción se colocan por separado en dos tiras. Una tira es para alfa DQ y la otra para los cinco tipos restantes. Hay varios pasos en un test de PCR de DQ alfa: (1) se extrae DNA de 50 o más células. (2) El DNA de la muestra es copiado por PCR dando lugar a una amplificación de la secuencia diana original. (3) El DNA amplificado se trata ahora con

(a) Punto de hibridación (también llamado punto de hibridación inversa)



(b) Las tiras de tipaje de alfa DQ tienen este aspecto antes de que se obtenga algún tipaje:



(c) Interpretación: Genotipo de los alelos 1,1, 2

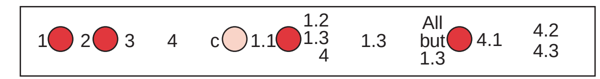


Figura 8.5 Proceso de hibridación puntual El *kit* de tipaje por hibridación puntual PM + DQA1 (PE Applied Biosystems) marca seis loci genéticos (DQA es un gen del complejo de anticuerpos humanos). Los seis sitios de DNA son copiados por PCR utilizando cebadores de DNA para este DNA. Los productos de esta reacción se colocan en dos bandas separadas de tipaje. Una tira es para el alfa DQ, y la otra para los cinco restantes loci genéticos.

diversas sondas que están unidas a un punto. A partir del patrón de sondas que se unen al DNA amplificado, se puede ver un tipo potencial de DNA.

Análisis de STR

La tecnología de STR se utiliza para evaluar regiones específicas (loci) en el DNA nuclear. La variabilidad en las regiones STR se puede utilizar para distinguir un perfil de DNA de otro. El FBI utiliza un conjunto estándar de 13 regiones específicas STR para el CODIS, un *software* que opera con bases de datos locales, estatales y nacionales de perfiles de DNA de delincuentes condenados, crímenes sin resolver y personas desaparecidas. La probabilidad de que dos individuos tengan el mismo perfil genético en los 13 loci es de más de uno entre mil millones.

8.4. Usos del DNA

La huella genética es similar a las antiguas huellas dactilares en un aspecto importante. En ambos casos, las pruebas recogidas en la escena del crimen se comparan con las pruebas recogidas de una fuente conocida. Durante la evaluación de las muestras, los analistas están buscando la alineación de las bandas o puntos en la huella genética. Si las muestras son de la misma persona (o de gemelos idénticos), las bandas o puntos deben estar alineados exactamente (véase Figura 8.6).

Todas las pruebas se basan en la exclusión. En otras palabras, las pruebas continúan sólo hasta que se en-

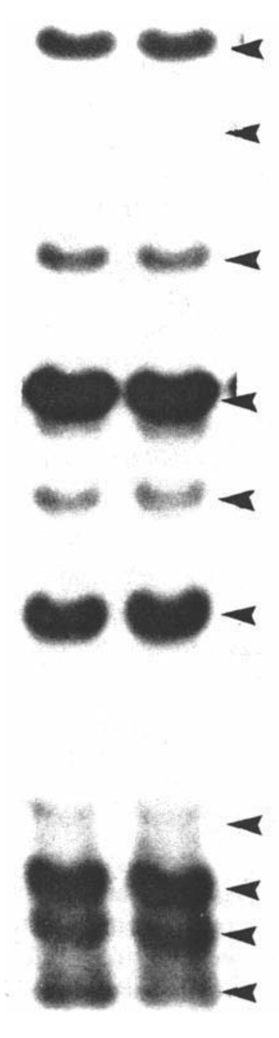


Figura 8.6 Análisis de DNA de gemelos idénticos Cuando no se producen problemas al cargar y correr un gel con DNA, las bandas deberían alinearse exactamente para DNA idénticos (o los DNA de gemelos idénticos). Con frecuencia, se cargan fragmentos de DNA de tamaño conocido, o marcadores de DNA, cada cinco carriles para comprobar si la banda ha cambiado. Los cambios de las bandas pueden interferir con las pruebas y se producen por diversas razones. La carga de un marcador de DNA (cortado a longitudes conocidas) permite la comparación de la ubicación de los fragmentos de DNA del mismo tamaño a través del gel, corrigiendo las modificaciones de las bandas. Este gel de electroforesis no muestra ninguna imagen de cambios en las bandas.

cuentra una diferencia. Si no se encuentra diferencia después de una cantidad estadísticamente aceptable de pruebas, la probabilidad de coincidencia es alta.

Como veremos, esta clara evidencia visual puede ser de incalculable valor para la policía científica. A continuación consideraremos algunos ejemplos reales de análisis de DNA.

Los crímenes de la aldea Narborough

La primera utilización de la huella genética en un caso criminal se realizó en un caso de violación y asesinato de una escolar en Reino Unido en el año 1983. Sir Alex Jefferies y sus colegas, el Dr. Peter Gill y el Dr. Dave Werrett, desarrollaron técnicas para la extracción de DNA y preparación de análisis genéticos a partir de muestras de tejido humano antiguas. Gill también desarrolló un método para separar los espermatozoides de las células vaginales, que permite realizar el análisis genético en las células de la vagina primero y después en los espermatozoides, para proporcionar las muestras que se van a comparar. Como se muestra en la Figura 8.7, un detergente puede romper las células vaginales, pero no afectar a los espermatozoides. Sin estos descubrimientos, sería difícil utilizar las pruebas de DNA para resolver los casos de violación, porque los espermatozoides no podrían ser localizados para compararlos con muestras conocidas.

En los asesinatos de Narborough, Jefferies y sus colegas compararon las pruebas de DNA recogidas en el caso con una muestra de semen de una violación/asesinato similar que había tenido lugar anteriormente. Este análisis indicó que ambos delitos habían sido cometidos por el mismo hombre. En este momento, la policía tenía un sospechoso. Sin embargo, cuando las pruebas de DNA se compararon con una muestra de DNA de la sangre del sospechoso, el DNA no coincidía. El principal sospechoso fue considerado excluido.

La investigación continuó. La policía llevó a cabo el primer análisis de DNA en masa del mundo, recogiendo 5.500 muestras de la población masculina del distrito. Usando tests sencillos de tipado de sangre, todos menos el 10 por ciento de este gran grupo fueron rápidamente excluidos (mediante métodos de análisis de RFLP descritos anteriormente). Después de muchas horas agotadoras de análisis, la investigación había llegado a un callejón sin salida porque ninguno de los perfiles restantes coincidía con el del violador/asesino.

Luego vino el golpe de suerte. Un hombre reconoció que había dado una muestra con el nombre de un amigo. Cuando el hombre que había eludido las pruebas fue detenido, se analizó su DNA. El patrón de su DNA produjo una coincidencia exacta con el DNA de la muestra de semen de los delitos. El sospechoso confesó ambos crímenes y fue condenado a cadena perpetua.

Este caso pone de relieve una de las limitaciones importantes de la utilización de pruebas de DNA: Si no hay una muestra conocida para comparar, no se puede establecer la identidad. En el ejemplo mostrado en la Figura 8.8, las muestras de sangre de la víctima y el sospechoso son conocidas. Al comparar estas dos huellas de DNA conocidas, los investigadores fueron capaces de colocar al sospechoso en la escena del crimen basándose únicamente en el análisis de DNA de la sangre hallada en la ropa del sospechoso.

El violador de Forest Hills

Las pruebas de DNA se utilizaron por primera vez en Estados Unidos en 1987 y desde entonces han ayudado a resolver miles de casos.

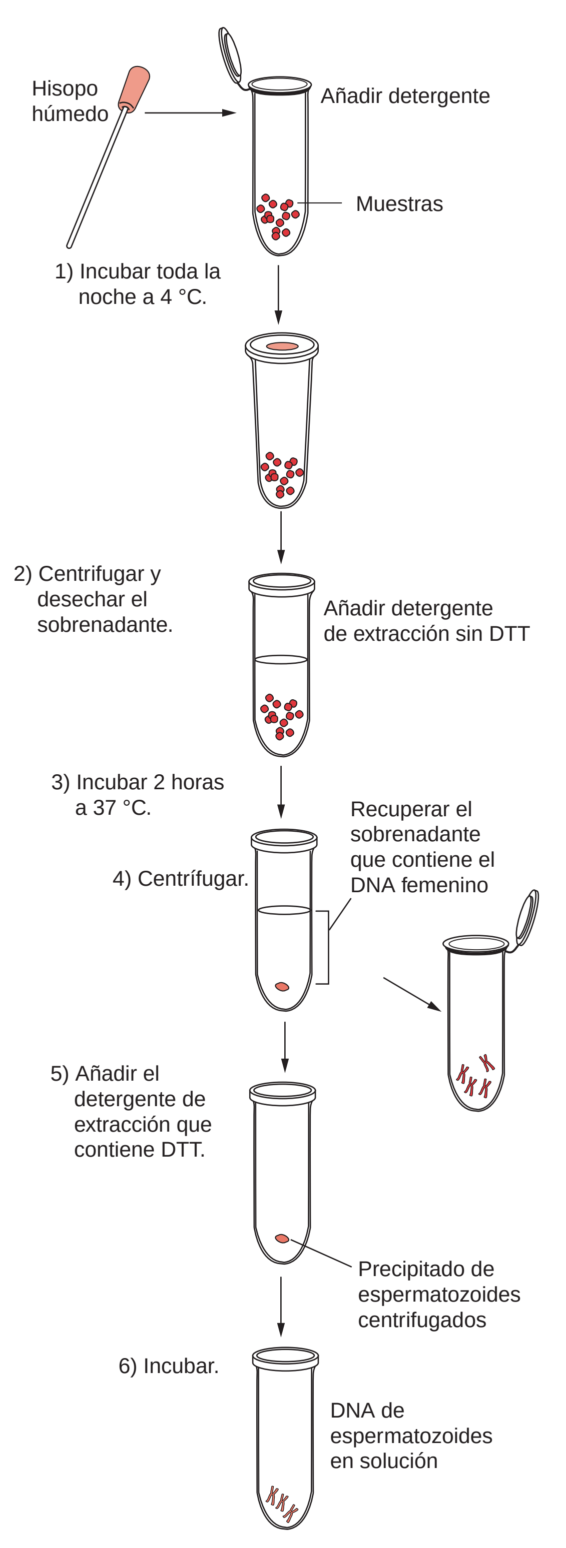


Figura 8.7 Aislamiento de DNA de los espermatozoides o de DNA de células vaginales a partir de muestras mixtas El DNA de los espermatozoides puede ser analizado para compararlo con el perfil obtenido de un frotis vaginal de una mujer. El tampón que contiene ditiotreitol (DTT) rompe la membrana de los espermatozoides y permite detectar el DNA del esperma después de que el DNA vaginal haya sido analizado por separado en una muestra mixta (debido a la capacidad de la membrana celular de los espermatozoides de resistir la ruptura hasta la adición del DTT).

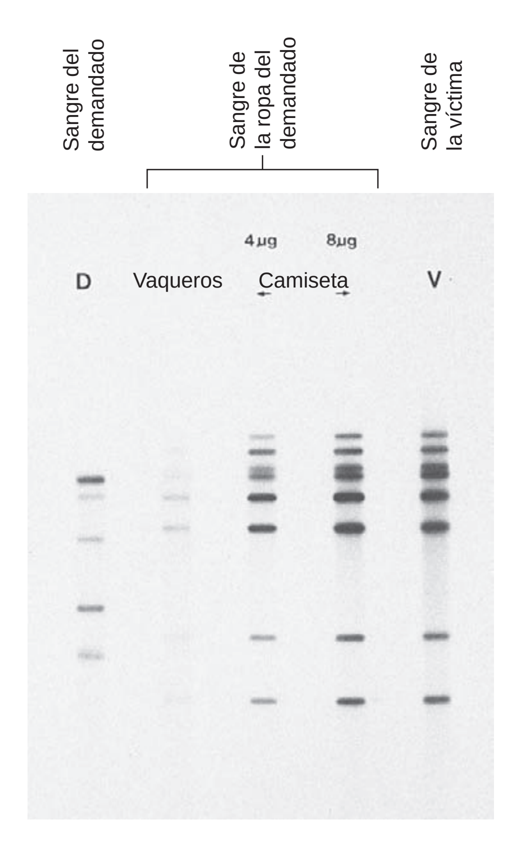


Figura 8.8 Análisis de DNA de un caso de asesinato El DNA de las manchas de sangre en la ropa de la parte acusada (vaqueros, camiseta) coinciden con la huella genética de la víctima, pero no de la parte acusada. Esto indica que la sangre de la víctima pasó a la ropa de la parte demandada, situando a la parte acusada en la escena del crimen.

Un uso especialmente importante de las pruebas de DNA es refutar otras pruebas erróneas que han llevado a veces a una convicción falsa. Las pruebas de DNA son especialmente valiosas cuando se utilizan para exponer testimonios defectuosos de los testigos. Los testimonios de testigos presenciales, que podrían ser considerados como la prueba de oro, son en realidad bastante falibles.

Por ejemplo, en 1988, Víctor López, el denominado violador de Forest Hills, fue juzgado por la violación de tres mujeres. Las tres mujeres habían descrito a su atacante como un hombre negro cuando denunciaron el delito a la policía. Debido a que López no era negro, se planteó que se trataba de un caso de identidad equivocada. ¿Era López un hombre inocente acusado falsamente por el sistema? La sangre del acusado fue analizada y comparada con el esperma encontrado en la escena, como se ve en la Figura 8.9. El DNA coincidía. López fue hallado culpable de los ataques, a pesar de los testimonios contradictorios de los testigos. Ahora vamos a ver si todo esto que hemos aprendido es admisible como prueba.

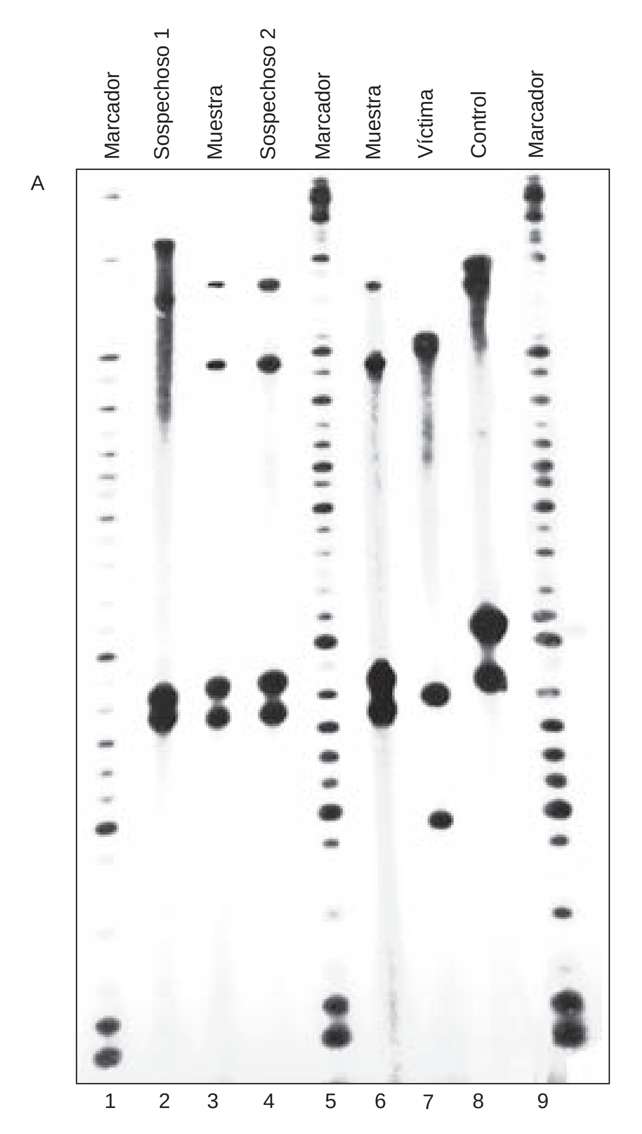


Figura 8.9 **Análisis de DNA de un caso de violación** El carril 3 es una muestra de un frotis vaginal de la víctima, y el carril 6 es una mancha de semen de su ropa. El sospechoso 1 puede ser excluido porque varias de las bandas no coinciden. El sospechoso 2 no puede ser excluido porque su DNA (carril 2) coincide con el perfil de las muestras (carril 3 y 6).

El terrorismo y los desastres naturales impulsan el desarrollo de nuevas tecnologías

World Trade Center

Poco después de que las torres gemelas del World Trade Center (WTC) en Nueva York fueran destruidas por los ataques terroristas del 11 de septiembre de 2001, los científicos forenses se unieron y se aceleraron los esfuerzos para utilizar técnicas basadas en el DNA para identificar los restos de las víctimas. Cuestiones tales como la enorme cantidad de escombros en el lugar, las condiciones de trabajo peligrosas, y el calor y la descomposición microbiana de los restos, junto con los cientos de miles de muestras de tejidos (principalmente fragmentos de hueso) de las casi 3.000 personas muertas, pusieron de manifiesto que era necesario emplear nuevas estrategias para preparar y organizar rápidamente los análisis de DNA y compararlos con los perfiles de DNA de sus familiares. ¿Cómo podrían establecer los científicos la identidad del DNA de los que perecieron entre más de 1,5 millones de toneladas de escombros?

Organismos estatales como el Departamento de Salud de Nueva York y el Laboratorio de Exámenes Médicos y organismos federales, incluidos el Departamento de Defensa, Institutos Nacionales de Salud y el Departamento de Justicia de Estados Unidos, respondieron de inmediato para ayudar en esta tarea. A las 24 horas del desastre, el Departamento de Policía de New York había establecido puntos de recogida a lo largo de la ciudad, donde miembros de las familias podían informar acerca de las personas desaparecidas y proporcionar hisopos de células de la mejilla para el aislamiento de DNA. También se recogieron artículos personales (peines, cepillos de dientes) de los desaparecidos para el análisis de DNA.

Myriad Genetics, Inc., Gene Codes Forensics, DNA-VIEW, Celera Genomics, Bode Technology Group y Orchid Genescreen fueron algunas de las empresas que ayudaron en este esfuerzo. Algunas compañías se implicaron en el desarrollo de nuevos programas para ayudar a emparejar las muestras presentadas por los miembros de las familias con los perfiles de DNA obtenidos de las víctimas del WTC. Dado que el tejido de las muestras consistía principalmente en pequeños fragmentos óseos y dientes, se obtuvo un DNA fragmentado debido a la degradación del DNA por el intenso calor en la zona, los científicos forenses utilizaron principalmente STR, DNA mitocondrial, y análisis de SNP de los fragmentos de DNA para desarrollar los perfiles.

Los análisis de DNA se realizaron en más de 15.000 muestras de tejidos, aunque menos de 1.700 de las cerca de 2.819 personas que murieron en el lugar fueron identificados en última instancia. Esta tragedia obligó a la elaboración de nuevas estrategias forenses para el análisis y la organización de los restos recuperados y para proporcionar el cierre del caso a un gran número de familias que perdieron a sus seres queridos en el ataque.

El tsunami del sur de Asia

El tsunami de Asia meridional en diciembre de 2004 fue una tragedia que se cobró más de 225.000 vidas y devastó áreas de Indonesia, Sri Lanka y Tailandia. La compañía Gene Codes, con sede en Michigan, modificó su *software* llamado **Sistema Total de Identificación de la Fatalidad (M-FISys)** para colaborar en la identificación de las víctimas del tsunami de Tailandia. Debido a que el M-FISys fue en esencia construido en respuesta a la tragedia del 11S, Gene Codes no tenía que desarrollar un *software* nuevo por completo y fueron capaces de personalizar M-FISys a las nuevas necesidades. Además del análisis del DNA mitocondrial (véase la sección 8.6), M-FISys incorporó variaciones específicas en el cromosoma Y llamadas Y-STR para ayudar en la identificación de los individuos. En un plazo de tres meses aproximadamente 800 víctimas habían sido identificadas.



TÚ DECIDES

¿Herramienta para luchar contra el crimen o invasión de la intimidad?

En los asesinatos de Narborough, se realizaron pruebas a personas fueron testadas porque todos se ajustaban a una descripción general: Eran hombres jóvenes que vivían en la zona de los asesinatos. Esta estrategia llevó a la condena del asesino, pero los análisis en masa, especialmente basados en una descripción general, son muy polémicos. Los opositores señalan que más de 5.000 hombres inocentes fueron llamados a dar una muestra de sangre durante la investigación, y la persona culpable casi escapó a la detección a pesar de estos esfuerzos. Estos análisis en masa están ahora prohibidos tanto en Estados Unidos como en Reino Unido (sin una causa justificada). Sin embargo, muchas personas todavía creen que, incluso la búsqueda rutinaria de muestras de DNA en una investigación penal continúa vulnerando el derecho fundamental a la intimidad.

Las bases de datos de perfiles de DNA generan una especial preocupación. La búsqueda de datos de DNA en registros informáticos está ahora autorizada por los 50 estados. Muchos estados también han registrado los perfiles de DNA que se recogen en el CODIS, el Sistema de Índice Combinado de DNA dirigido por el FBI. Además de los perfiles de los delincuentes condenados, el CODIS contiene una recopilación de perfiles de DNA no identificados tomados de las escenas de los delitos, y algunos defensores están luchando para añadir perfiles de DNA de todas las personas detenidas por cualquier delito. Algunos estados incluso han propuesto que se adopten los perfiles de DNA de todos los individuos en el momento del nacimiento para crear bases de datos que podrían utilizarse para identificar a los delincuentes, mediante la comparación de los perfiles de DNA de sus familiares.

A principios de 2007, el gobierno federal propuso que los perfiles de DNA de más de 400.000 inmigrantes ilegales y de los prisioneros detenidos en la guerra contra el terrorismo se añadieran al CODIS.

Comparando las bases de datos, los agentes de la ley pueden identificar a posibles sospechosos cuando no existe dicho sospechoso previamente. (Visita la web CODIS del FBI, http://www.fbi.gov/HQ/codis laboratorio/, para ver cómo se utiliza la información para resolver crímenes.)

Los opositores no discuten la posible utilidad de las bases de datos, pero les preocupa que la tecnología pudiera ser objeto de abuso. Señalan que tomar una muestra de sangre es un proceso más invasivo que tomar un conjunto de huellas dactilares. En algunos casos, los tribunales están de acuerdo y determinan que la recogida de DNA es una violación de las leyes estatales y federales, prohibiendo la búsqueda y captura sin razón. Existe también la posibilidad de que la información del DNA pudiera usarse algún día para discriminar a los solicitantes de empleo o de seguros de salud. A pesar de que los perfiles se basan en «DNA basura» y no proporcionan información sobre las enfermedades genéticas o de otro tipo de rasgos, la muestra original contiene el DNA completo de un individuo. Sobre esta base, algunos demandan que todas las muestras sean destruidas después de que la investigación de un caso concreto se haya completado.

Los partidarios de recoger el DNA en bases de datos señalan que éstos están regulados y son seguros, y las muestras obviamente no están identificadas con el nombre de la fuente. Solamente los profesionales capacitados recogen las muestras de sangre, y el procedimiento no presenta ningún riesgo significativo para la salud de los donantes.

¿Es la recogida sistemática de sangre y la elaboración de bases de datos de DNA una herramienta razonable en el esfuerzo para luchar contra el delito o es una invasión injustificada de la privacidad? ¿Deberían los investigadores poder llevar a cabo análisis en masa como el usado en el caso de Narborough? Tú decides.

Recientemente, Gene Codes estableció el Proyecto Shoah de DNA (*Shoah* es el nombre hebreo para el Holocausto), un esfuerzo por utilizar M-FISys para establecer una base de datos genéticos de los supervivientes del Holocausto nazi con el objetivo global de tratar de reunir a unos 10.000 huérfanos de la posguerra en todo el mundo.

8.5. El DNA y las reglas de la evidencia

Antes de que los análisis de DNA pudieran utilizarse en un tribunal, las huellas genéticas debían responder a las normas jurídicas generales relativas a la admisibilidad de las pruebas. Los tribunales usan cinco normas diferentes para determinar si se deben permitir las pruebas científicas en un caso. La prueba utilizada depende de la jurisdicción. Cuando una nueva técnica o método se utiliza para recopilar, procesar o analizar las pruebas, debe cumplir una o varias de estas normas antes de que se admita esa prueba.

- La prueba de relevancia (Reglas Federales de las Pruebas 401, 402, y 403), permite esencialmente todo lo que sea considerado relevante por los tribunales.
- La norma *Frye* (1923) requiere que la teoría y técnicas subyacentes utilizadas en la toma de las pruebas hayan sido «suficientemente utilizadas y probadas dentro de la comunidad científica y hayan ganado la aceptación general». Esto conoce como prueba de aceptación general.

- La norma *Coppolino* (1968) permite usar ciencia nueva o controvertida si puede establecerse sobre un fundamento adecuado, incluso si la profesión como conjunto no está familiarizada con el nuevo método.
- La norma *Marx* (1975) es básicamente una prueba de sentido común que exige que el tribunal pueda comprender y evaluar la evidencia científica presentada. Esto se conoce como la norma de la no jerga.
- La norma *Daubert* (1993) requiere audiencias especiales preventivas para las pruebas científicas. En el marco de la norma Daubert, cualquier proceso científico utilizado para recoger o analizar las pruebas debe haber sido descrito en una revista revisada por otros expertos.

El objetivo es asegurarse de que los métodos científicos y los conocimientos utilizados para proporcionar pruebas son fiables.

El análisis de DNA y los asesinatos de los Simpson y los Goldman

El análisis de DNA era un instrumento relativamente nuevo cuando la policía forense de Los Ángeles lo utilizó en el juicio más infame de la historia reciente. En 1994, Nicole Brown Simpson y Ronald Goldman fueron asesinados, O. J. Simpson, el ex marido de Nicole Simpson era uno de los sospechosos. Se recogieron 45 muestras para el análisis de DNA, incluidas muestras conocidas con sangre de las dos víctimas y del sospechoso, así como gotas de sangre encontradas en la escena del crimen, en la casa del sospechoso, y en su coche. Además, dos guantes con sangre, uno encontrado en la escena del crimen y otro que según la alegación fue encontrado en la casa de O. J. Simpson, fueron analizados para el DNA. Durante el procedimiento previo al juicio, se anunció que el DNA recogido en la escena del crimen coincidía con el de O. J. Simpson.

Los abogados defensores de inmediato atacaron los procedimientos utilizados en la recogida, etiquetado y control de las pruebas. Durante el juicio, la defensa mostró una cinta de vídeo de los métodos de recogida y señaló el testimonio de expertos para establecer la duda acerca de la fiabilidad de las pruebas presentadas. La defensa hizo hincapié en que la contaminación podría haber ocurrido cuando un técnico tocaba el suelo, cuando se utilizaron bolsas de plástico para almacenar hisopos húmedos, y cuando las pinzas de recogida de muestras se enjuagaban con agua después de tocar muestras. Mientras tanto en el estrado, un testigo de la acusación admitió haber identificado incorrectamente una muestra. La posibilidad de que la muestra pudiera ser contaminada fue evidente tanto para el tribunal como para el jurado. Como resultado, las pruebas de DNA, esperadas para la acusación del caso, no fueron eficaces. O. J. Simpson fue declarado no culpable. Cuando la cadena de las pruebas se rompe –cuando no se siguen las reglas de evidencia– las muestras de DNA pierden su valor en los tribunales.

Error humano y fuentes de contaminación

Una de las mayores amenazas para las pruebas de DNA es el error humano. Anteriormente hemos revisado algunas de las precauciones que toman los investigadores de la escena del crimen para preservar y recoger pruebas de DNA. Un estornudo, un almacenamiento inadecuado, los fallos en el etiquetado de cada muestra –los llamados problemas pequeños– pueden producir la destrucción de las pruebas. Incluso si las muestras de DNA no se degradan por el manejo descuidado o las malas condiciones, pueden ser rechazadas si tienen dudas sobre la «cadena de custodia». La cadena de custodia exige que la recogida de las pruebas deba ser registrada sistemáticamente y el acceso a las pruebas debe ser controlado. La recogida de la muestra de la escena del crimen presenta problemas, pero la recogida de muestras en ambientes más controlados, como el depósito de cadáveres, también es problemático. En estudios de mesas e instrumentos de depósitos de cadáveres se han visto que a menudo están presentes los DNA de al menos tres personas. Este DNA podría ciertamente confundir los resultados de los análisis realizados en muestras recogidas en ese entorno.

Las pruebas de DNA son también vulnerables a los daños en el análisis propiamente dicho (por ejemplo, el DNA del cuerpo de los técnicos o de otras fuentes puede ser añadido a la muestra por error). Los criterios de buenas prácticas y procedimientos de laboratorio establecidos pueden ayudar a prevenir errores durante el análisis forense de DNA. Cuando las pruebas de DNA eran una idea nueva, los laboratorios no estaban regulados y en algunos cometieron graves errores. Consideremos el caso de *Nueva York v. Castro,* que supuso el asesinato de una mujer y su hijo de dos años. La fiscalía presentó autorradiografías generadas con el método de *Southern blot,* del DNA del sospechoso y el DNA de la escena del crimen y afirmó que coincidían. Sin embargo, un testigo experto de la defensa señaló que las bandas sin duda no coincidían. En este caso, los técnicos cometieron errores durante el análisis y evaluación de la autorradiografía. Afortunadamente, debido a que las normas para la admisibilidad de las pruebas son duras y a que la defensa tuvo acceso a expertos en DNA, estos errores no dieron lugar a un error fatal de la justicia. El sospechoso no se podía vincular al delito con estas pruebas.

Un paso para garantizar la fiabilidad del DNA es asegurarse de que los laboratorios que procesan las muestras siguen y son coherentes con las reglas para tratar las pruebas. La Sociedad Americana de Directivos de Laboratorios Criminológicos (ASCLD), el Centro Nacional de Tecnología de Ciencias Forenses (NSFTC) y el Colegio Americano de Patólogos (CAP) proporcionan la acreditación a los laboratorios forenses. Los tests de aptitud de los técnicos se han convertido en un requisito básico para conseguir su puesto. Estas pruebas incluyen tests «a cie-

gas» cuando el técnico es consciente de que la muestra que está procesando es realmente una prueba presentada por la organización que acredita. Además, el FBI ha desarrollado un procedimiento operativo estándar para el manejo y análisis de pruebas de DNA en casos criminales. Con claras directrices y formación completa de los responsables que recopilan y conservan las pruebas, la fiabilidad de las pruebas de DNA deberían aumentar en los tribunales.

DNA y jurados

El uso de pruebas de DNA también presenta otro desafío. Para ser útil, la ciencia debe tener sentido para el jurado que evalúa el caso. Debido a que las pruebas de DNA son de naturaleza estadística, los resultados pueden ser confusos para una persona sin educación suficiente, especialmente cuando se trata de grandes números. Cuando los miembros de un jurado escuchan que hay «1 probabilidad entre 50 mil millones» de que pudiera ocurrir una coincidencia al azar, es posible que puedan centrarse en esa posibilidad y descontar las abrumadoras probabilidades de que esto ocurra. Curiosamente, el mismo jurado podría aceptar una huella dactilar convencional como una prueba más fiable, a pesar de que algunos estudios han llegado a la conclusión de que esas pruebas son en realidad menos válidas estadísticamente. Hacer que las pruebas de DNA sean claras y comprensibles para los miembros del jurado no es una tarea fácil. Y si las pruebas de DNA no se entienden claramente, las pruebas pueden desecharse.

PyR

P ¿Deberían realizarse los análisis de DNA a cualquier persona inculpada de un crimen?

R Una prueba de DNA puede condenar al culpable, pero ofrece salvación al inocente. Cientos de personas han sido liberadas de la cárcel después de haber sido exoneradas por pruebas de DNA. El número se incrementará gracias a la Ley de Protección de Inocencia de 2001, una ley que da acceso a las personas condenadas a las pruebas de DNA, se prohíbe a los estados destruir pruebas biológicas, siempre que un condenado es encarcelado, se prohíbe negar las pruebas de DNA a los condenados a muerte, y se establece la indemnización para los inculpados inocentes. En octubre de 2004, el presidente George W. Bush firmó la Ley de Justicia para Todos que otorga a cualquier preso condenado por un delito federal el derecho de petición ante la corte federal de las pruebas de DNA para apoyar la inocencia de una persona. El Proyecto de la Inocencia en la Facultad de Derecho Cordoza de Nueva York ha sido una gran cruzada para la Ley de Protección de Inocencia. Usando muestras de DNA, el proyecto ha demostrado que 95 personas fueron injustamente encarceladas. Diez de esos individuos fueron rescatados estando en el corredor de la muerte. Las pruebas de DNA son mucho más fiables que la mayoría de los otros tipos de pruebas, pero los análisis de DNA pueden ser costosos. Así que la respuesta a la pregunta original es, probablemente sí, si los estados crearan sus propios laboratorios de análisis de DNA y el costo de estas pruebas siguiera bajando. Nadie quiere ver a personas inocentes condenadas por delitos que no han cometido.

8.6. Relaciones familiares y perfiles de DNA

Resolver delitos no es la única aplicación forense de los análisis de DNA. Debido a que el DNA es compartido por miembros de la misma familia, se pueden concluir determinadas relaciones por comparación de muestras entre dos individuos. Un uso evidente de esto es la prueba de paternidad. Cada año se presentan alrededor de 400.000 juicios de paternidad en Estados Unidos, Canadá y Reino Unido (este número ha aumentado alrededor del 10 por ciento desde que la prueba se inició en 1988). Obteniendo muestras de los niños y los adultos involucrados, la verificación de la paternidad del niño y la manutención o la custodia de los hijos es relativamente fácil. Recientemente, las nuevas tecnologías reproductivas, incluidas la fecundación *in vitro,* inseminación artificial con semen de un donante, y la subrogación (madre sustituta) han presentado cuestiones peculiares respecto a la custodia y paternidad. Las pruebas de DNA han ayudado a dilucidar casos en los tribunales que implicaban confusiones de esperma en clínicas de fertilidad, por ejemplo. Gracias a la amniocentesis, como se muestra en la Figura 8.10, es posible verificar la paternidad de un niño incluso antes del nacimiento.

Análisis de DNA mitocondrial

Los análisis de DNA mitocondrial (mtDNA) también pueden utilizarse para examinar el DNA de las muestras que no pueden ser analizadas por RFLP o STR. El DNA nuclear debe ser extraído de las muestras para su uso en RFLP, PCR y STR, pero el análisis de DNA mitocondrial utiliza DNA extraído de un orgánulo celular llamado *mitocondria.* Muestras biológicas más antiguas que carecen de material celular nucleado, tales como pelo, huesos y dientes, no se pueden analizar con STR y RFLP, pero sí con DNAmt. Todas las madres tienen el mismo DNA mitocondrial que sus hijas, porque las mitocondrias de cada nuevo embrión provienen del óvulo de la madre. El espermatozoide de padre aporta sólo DNA nuclear, y no las mitocondrias. Comparando el perfil de DNA mitocondrial de restos no identificados con el perfil de una madre potencial se puede determinar si se comparten los mismos perfiles de DNA mitocondrial y están relacionados. El DNAmt sigue siendo prácticamente el mismo de generación en generación, cambiando sólo el 1 por ciento cada millón de años debido a mutaciones al azar. En consecuencia, se pueden rastrear las relaciones a través de una línea material no interrumpida, como se muestra en la Figura 8.11.

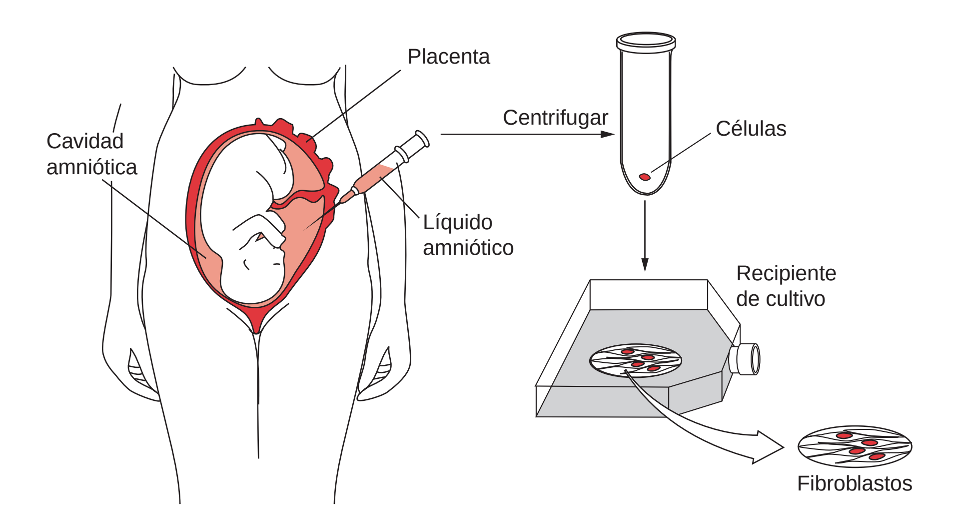


Figura 8.10 DNA para las pruebas de paternidad Para las pruebas de paternidad en disputa, es posible extraer algunas células fetales del líquido que rodea al feto (líquido amniótico) sin perjudicar al feto en crecimiento. Cuando se cultivan, estas células pueden ser una fuente para la extracción y análisis de DNA. Cuando se compara con el DNA del supuesto padre, se puede determinar la exclusión o inclusión del individuo.

Análisis del cromosoma Y

El cromosoma Y se pasa directamente de padre a hijo, haciendo útil el análisis de marcadores genéticos en el cromosoma Y para rastrear las relaciones entre los hombres o para el análisis de pruebas biológicas donde participan múltiples colaboradores masculinos. El cromosoma Y puede ser analizado con métodos de DNA nuclear (generalmente por PCR).

Las pruebas de DNA mitocondrial fueron esenciales para la reunificación de las familias separadas por el gobierno militar de Argentina durante la guerra de las Malvinas en la década de 1980. Durante este régimen represivo, la junta militar arrestaba e interrogaba de forma rutinaria a cualquier sospechoso por supuestas actividades subversivas. Entre los detenidos había bastantes mujeres jóvenes embarazadas. Aproximadamente 15.000 de los detenidos e interrogados simplemente desaparecieron. Después de la caída de la junta en 1983, las madres y abuelas de estos jóvenes «desaparecidos» comenzaron a reunirse en la Plaza de Mayo, la plaza principal de la ciudad de Buenos Aires. Cuando se reunieron para protestar e intercambiar historias, comenzaron a ser conscientes de que una parte del horrible crimen podía continuar. Los bebés que nacieron de sus hijas en la cárcel habían sido arrebatados y estaban siendo criados por otras personas, a menudo por las familias de los que habían asesinado a sus padres.

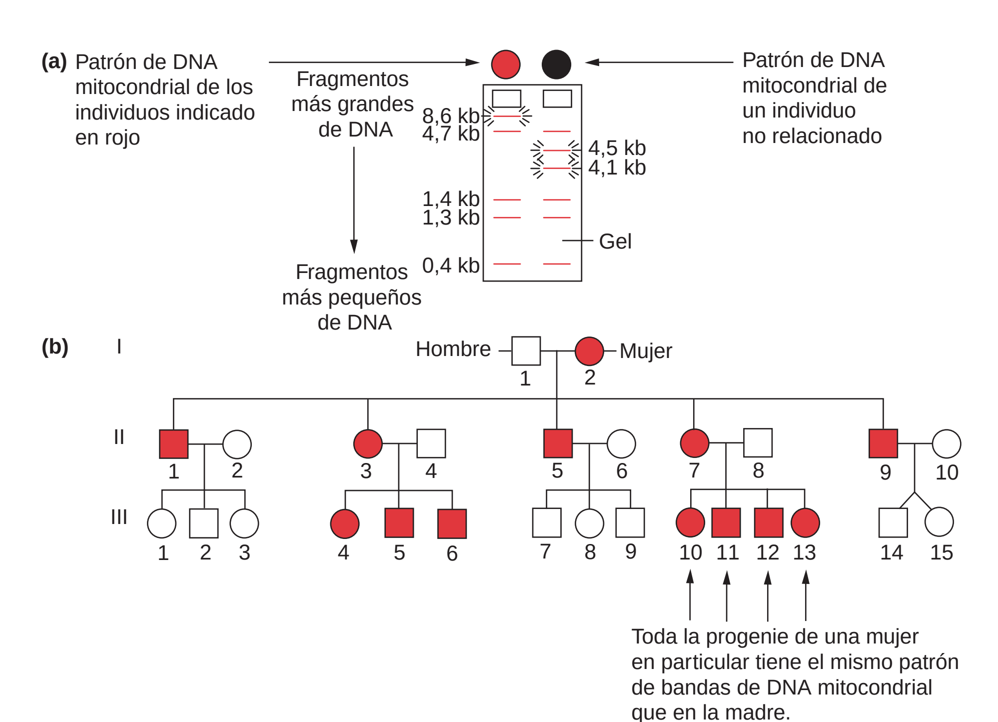


Figura 8.11 Patrón de herencia del DNA materno Los genes clave para la función mitocondrial (respiración celular) se encuentran en un pequeño anillo de DNA en las mitocondrias humanas. Debido a que las mitocondrias son aportadas por el óvulo (solamente) antes de la fecundación, el DNA puede rastrearse a través de la línea materna con análisis del DNA de la mitocondria. Algunos genes de las mitocondrias muestran variaciones debidas a mutaciones (véase la parte superior del gel 6,6, 4,7 vs. 4,5, 4,1 kilobases); otros no lo hacen.

Las madres de la Plaza de Mayo buscaron la ayuda de la Asociación Americana para el Avance de la Ciencia (AAAS), preguntando si se podrían utilizar las pruebas genéticas para comprobar la identidad de los niños robados. Gracias a la perseverancia de estas madres y abuelas, y los científicos que ofrecieron voluntariamente su ayuda, la AAAS fue capaz de demostrar que al menos 51 niños habían sido adoptados ilegalmente. Las pruebas de DNA se utilizaron en los tribunales para devolver los niños a sus parientes vivos.

Los lazos familiares establecidos por el DNA se han utilizado también para identificar los restos de figuras históricas. Durante muchos años, dos comunidades –Kearney, Missouri y Granbury, Texas– afirmaron ser el lugar de descanso final del famoso bandido Jesse James. En 1995, un cuerpo fue exhumado del cementerio Monte de los Olivos en Kearney. Desafortunadamente, la acidez y humedad del suelo hicieron imposible la recogida de una muestra de DNA adecuada de los huesos. Hubo otra fuente de DNA, sin embargo: los dientes y pelos que habían sido recogidos en el lugar del entierro original del cuerpo en la granja de James en Granbury.

Entonces ¿qué cuerpo era el de Jesse James? Comparando el DNA encontrado en los dientes y los cabellos se vio que eran todos idénticos, quedando claro que las muestras, al menos, eran todas de la misma persona. El siguiente paso fue la recogida de muestras de DNA de parientes vivos de Jesse James para compararlas. El análisis descubrió similitudes entre las muestras de los dientes y el pelo y las muestras de los parientes vivos. Las pruebas recogidas apoyaron la afirmación de Kearney de que el cementerio Monte de los Olivos era el lugar de descanso final de Jesse James.

8.7. Análisis de DNA no humano

No todos los casos jurídicos son relativos a la identidad humana. Se han resuelto muchas cuestiones jurídicas –así como dilemas científicos– por los perfiles genéticos de plantas y animales.

El ginseng, por ejemplo, es un producto a base de valiosas plantas; el mercado del mismo se estima en 3 millones de dólares solamente en Estados Unidos, y la demanda es alta también en otros países. En la actualidad, dos hierbas principales son conocidas como ginseng. Una de ellas es nativa de Norteamérica, y otra es originaria de Asia. Curiosamente, el ginseng asiático es el tipo que más se vende en las tiendas de salud y alimentación de América. La mayoría del ginseng americano –el más raro y valioso de las dos variedades– se exporta a Asia. Los dos tipos de ginseng parecen idénticos pero tienen una reputación muy diferente. El ginseng asiático, supuestamente aumenta la energía, mientras que el ginseng americano es apreciado por su supuesta capacidad para calmar los nervios. Los fabricantes están utilizando la secuenciación del DNA para ayudar a hacer una importante distinción entre estas dos variedades. Confirmar el origen del producto ayuda a asegurar el control de calidad y protege el mercado de los productos de ginseng americano. Este mismo tipo de análisis se realiza para otras plantas también. En la Figura 8.12 se muestra un análisis de DNA que se utiliza en el control de calidad de semillas de calabaza. Este proceso de control de calidad permite que el proveedor de semillas garantice un grado específico de hibridación genética, aumentando el valor de las semillas a los agricultores, que dependen de estas características para vender sus valiosas cosechas.



HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Los análisis de DNA avanzan en la investigación biológica

Además de su uso en los procedimientos judiciales, los análisis de DNA de animales se utilizan en investigación biológica directamente. En 2002, se informó de que el análisis del DNA de las manadas de bisontes, tanto públicas como privadas, indicaban que la mayoría de los bisontes tenían algún ganado doméstico como antepasado. No hay ningún signo externo de naturaleza «híbrida» en estos animales, pero su patrimonio se hace evidente en su DNA. Como resultado de esta investigación, se pueden tomar medidas para preservar el resto de los rebaños «puros».

Usando las pruebas de DNA, los científicos han descubierto que los carboneros, las golondrinas, los escribanos añiles y otras especies no son monógamas. Se examinó el DNA de los padres y sus descendientes para determinar si algunas de las crías en realidad tenían padres diferentes.

Además, los análisis de DNA mitocondrial (DNAmt) han demostrado ser una rica fuente de nueva información sobre la biología evolutiva. Se estima que las mitocondrias mutan a una tasa de un 2 a un 4 por ciento por millón de años, lo que permite a los científicos rastrear la frecuencia de cambios génicos a lo largo del tiempo. Usando la frecuencia de cambios en el DNA mitocondrial, los científicos son capaces de diferenciar entre especies animales similares y examinar el papel de la sustitución de bases durante la evolución. Sólo es necesario un nanogramo de DNAmt para una identificación por secuenciación directa. De hecho, la «Hipótesis de Eva», que usó muestras de DNAmt para indicar que una mayoría de las personas que ahora viven en la tierra provienen de un único ancestro femenino de África, se basa en el análisis de DNAmt.

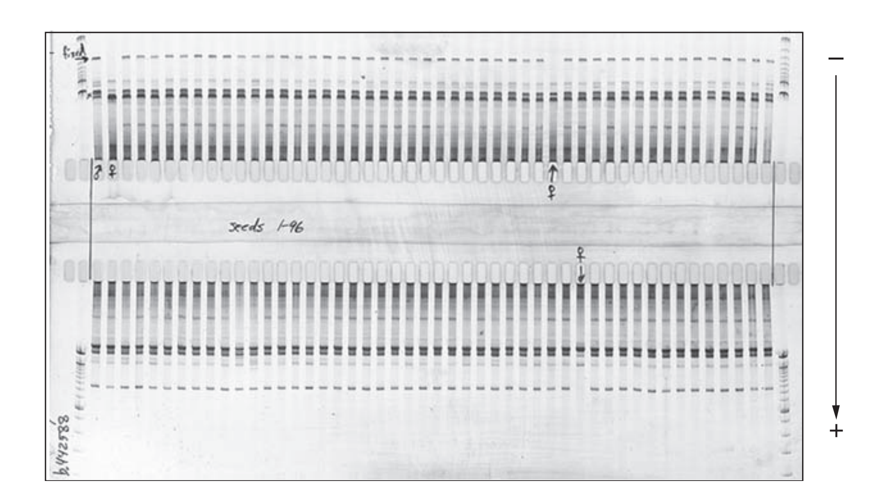


Figura 8.12 Perfil de DNA de híbridos de calabaza utilizados como análisis de control de calidad El ánodo está en el centro de este gel con los cátodos en la parte superior e inferior. Cuando se carga el DNA de 96 semillas en el centro del gel, migrará hacia los cátodos durante la electroforesis. La planta parental masculina dio lugar a la banda superior de DNA, y la femenina dio lugar a la banda más baja de las dos bandas de la descendencia híbrida que se está estudiando. Todas las plantas híbridas tienen ambas bandas (una excepción da una garantía de calidad de un 98,9 por ciento de pureza de las semillas en las 96 semillas testadas). Este nivel de hibridación (control de calidad) incrementará el valor de las semillas para el agricultor en función del alto nivel de hibridación para los requerimientos de crecimiento.

Otro caso interesante de «paternidad» en el mundo vegetal implicó la antigüedad de las uvas de ascendencia *cabernet sauvignon,* que son muy apreciadas para la producción de vino.

Las uvas híbridas son consideradas inferiores por algunos puristas del vino y legalmente son excluidas de la prestigiosa distinción *appellation d´origine contrôlée* en Francia. Cuando los científicos examinaron el DNA de las plantas *cabernet sauvignon,* fue evidente que otras dos variedades de uvas, *cabernet franc* y *sauvignon blanc,* fueron claramente antepasados de la uva *cabernet sauvignon.* Este descubrimiento cuestionó la vieja idea de que las variedades derivadas de cruces son sustancialmente menos valiosas que las uvas de vino.

Las pruebas de DNA también son útiles para generar el perfil genético de animales. Por ejemplo, en Pensilvania, la toma de huellas genéticas se utilizó para demostrar que un cazador había matado a un oso de manera ilegal. La temporada de caza de osos en ese estado está concebida para proteger osas embarazadas. Una ley hace ilegal matar a los osos en sus madrigueras para asegurar que una gran parte de la población de hembras fértiles serán protegidas durante la temporada. En este caso, un testigo afirmó haber visto a un cazador descargar su fusil en la madriguera de un oso. El cazador había registrado la muerte en un punto de control adecuado (sin revelar las circunstancias en las que disparó), donde fue retirado uno de los premolares del oso según lo especificado por la regulación de caza del estado, para verificar el sexo y la edad del individuo. Como parte de la investigación del informe de este testigo, las autoridades recogieron muestras de sangre de la madriguera y compararon el DNA de la madriguera con el del punto de control. Las pruebas revelaron que las muestras de DNA eran del mismo animal, a pesar de que el cazador, en su esfuerzo por evadir el enjuiciamiento, había admitido haber matado al oso a 8 km de la madriguera. Debido a las pruebas de DNA, fue encontrado culpable.

Los análisis de DNA en tales casos se llevan a cabo regularmente por las autoridades de gestión de la vida sal-

PERFIL PROFESIONAL



Técnico de laboratorio

Los técnicos de laboratorio son empleados frecuentemente en los laboratorios de análisis de DNA para llevar a cabo pruebas sobre las muestras recogidas en la escena del crimen. Estos técnicos deben ser capaces de seguir unas directrices con gran precisión. Se debe tener mucho cuidado en mantener el área de trabajo limpia para evitar la contaminación. De hecho, todos los técnicos que trabajan en laboratorios de autoridades competentes deben pasar un curso de análisis cuantitativo como condición para obtener su empleo. A menudo se necesita que los técnicos trabajen en una «sala limpia» especial usando batas sanitarias. Los sueldos van desde 15.500 a 20.000 euros para personal sin experiencia, y entre 18.000 y 30.000 euros para técnicos más experimentados.

La mayoría de los empresarios buscan personas con una licenciatura en biología, bioquímica o biología molecular. Algunos empresarios contratan a personas con un grado especializado en biotecnología y experiencia de laboratorio. La experiencia práctica en laboratorio es un requerimiento crítico en este trabajo y puede ser adquirida a través de cursos, pasantías y en la formación en el trabajo. Sin embargo, los técnicos también necesitan buenas aptitudes en matemáticas y capacidad de comunicación. La escritura es especialmente importante porque los cuadernos de laboratorio se consideran documentos legales. También son muy necesarios los conocimientos de informática. Las oportunidades de poder llegar a dedicarse a la investigación, sobre todo para aquellos con una licenciatura, son buenas.

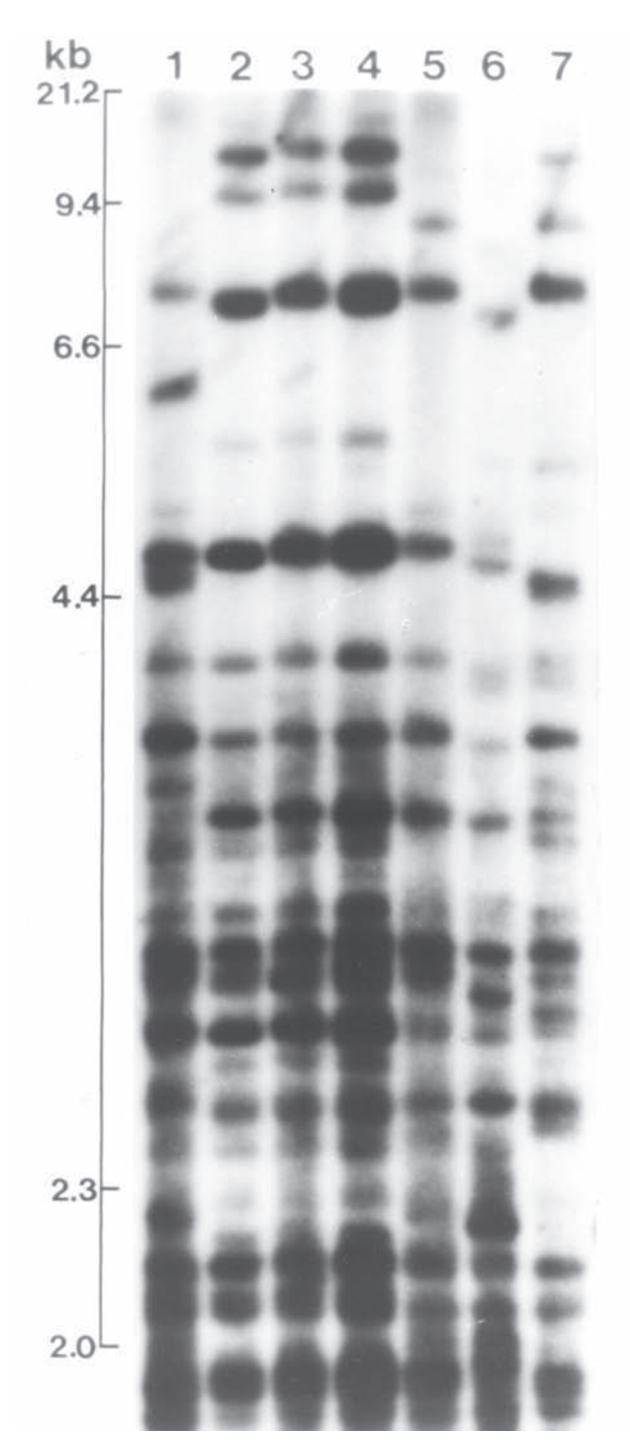


Figura 8.13 Análisis de DNA de cuatro muestras de alces Autorradiografías de RFLP como estas pueden ser utilizadas para determinar si existe más de un patrón. En este análisis, hay cuatro perfiles de DNA diferentes de un cazador con licencia para capturar sólo un animal (date cuenta de que hay bandas similares en los carriles 2, 3, 4, pero no en los otros en la parte superior del gel). Los patrones diferentes de bandas verifican que no son todos iguales (como afirmaba el cazador con permiso sólo para capturar un alce).

vaje. En la Figura 8.13 por ejemplo, se muestran los perfiles de DNA de cuatro alces que fueron matados por un cazador con permiso para matar solamente un alce. Los gestores de la vida salvaje armados con las herramientas de análisis de DNA, han mejorado su capacidad para demostrar que el juego ha rebasado los límites establecidos por las leyes.

Marcaje del DNA para la lucha contra el fraude

Varias compañías prevén que las huellas de DNA puedan proporcionan una barrera altamente específica para la falsificación de productos y la piratería, mediante el uso de DNA como sello de autenticidad oculto en una amplia variedad de productos. Prácticamente cualquier cosa de valor, desde obras de arte caras a recuerdos deportivos, podrían tener DNA incorporado. Entonces, las marcas de DNA podrían ser detectadas mediante PCR o técnicas de hibridación para verificar la autenticidad. Por ejemplo, los balones de fútbol en la Super Bowl de 2003 fueron codificados con DNA para autentificarlos como productos oficiales de la Liga de Fútbol Nacional. Durante el verano de los Juegos Olímpicos de Sydney 2000, DNA Technologies de Halifax, Nueva Escocia, fabricó 34 millones de marcas con cadenas específicas de DNA y a continuación, las etiquetas fueron unidas a la mercancía bajo licencia olímpica. Inspecciones al azar de los vendedores de mercancías en Sydney, reveló que casi el 15 por ciento de las mercancías vendidas con licencia oficial fueron en realidad una falsificación, contribuyendo a casi 750.000 euros en ventas perdidas.

Anteriormente en este capítulo aprendiste por qué el DNA es un buen marcador forense. Estas mismas razones hacen que el DNA sea un buen marcador físico difícil de falsificar. Normalmente, el DNA de las etiquetas incorpora al azar secuencias de cadena sencilla de 20 a varios miles de nucleótidos. Estas cadenas se mezclan con tinta, tela, hilos y otros materiales utilizados en el producto que va a ser marcado. Para determinar si un artículo es auténtico, se retira la parte que contiene la marca de DNA y se analiza por PCR, o se añaden sondas que producirán fluorescencia si hibridan con las regiones de cadena sencilla en el producto.

Que el marcaje de DNA se convierta en una herramienta para combatir la falsificación está aún por verse, pero por ahora parece ser una promesa de las aplicaciones de la biotecnología del DNA.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. Explica qué se entiende por un locus polimórfico.
2. ¿Cómo afectan a alguien las secuencias polimórficas de DNA (por ejemplo, STR)?

3. ¿Cuántas bandas de RFLP encontradas en el DNA de un niño deberían aparecer en los análisis de DNA de su padre? ¿de la madre?
4. ¿Por qué los análisis de DNA basados en PCR se utilizan más en estudios forenses que los RFLP?
5. ¿Cómo podrían afectar posibles contaminaciones del técnico al RFLP?
6. ¿Por qué es considerado menos fiable el testimonio de un testigo que las pruebas de DNA (pon un ejemplo)?
7. ¿Cómo fue posible demostrar que el *cabernet sauvignon* era una mezcla de *cabernet franc* y *sauvignon blanc*?
8. ¿Por qué se ha hecho más popular la hibridación puntual que los RFLP en los intentos de exclusión?
9. ¿Cuál puede ser el resultado de sobrecargar un carril con DNA en un gel?
10. Cita al menos un ejemplo de cómo se ha utilizado lo análisis de DNA mitocondrial.

Bibliografía y lecturas complementarias

Barritt, J. A., Brenner, C. A., Matter, H. E., et al. (2001). Mitochondria in Human Offspring Derived from Ooplasmic Transplantation. *Forensic Science,* 46: 513–516.

Hagmann, M. A Paternity Case for Wine Lovers. *Science,* 285: 1470.

Harbison, S. A., Hamilton, J. F., and Walsch, S. J. (2001). New Zealand DNA Databank: Its Development and Significance as a Crime Solving Tool. *Science and Justice,* 41: 33–37.

Hollow, T. (2001). Reforming Criminal Law, Exposing Junk Forensic Science. *Scientist,* 15: 12.

Nowak, R. (1994). Forensic DNA Goes to Court with OJ. *Science,* 265: 1352–1354.

Jeffreys, A. J., Wilson, V., and Thein, S. L. (1985). Hypervariable 'Minisatellite' Regions in Human DNA. *Nature,* 314: 67–73.

Klovdahl, A. S., Grawiss, E., Yaganehdoost, A., et al. (2001). Networks and Tuberculosis: An Undetected Community Outbreak Involving Public Places. *Social Science and Medicine,* 52: 681–694.

Michele, T. M., Cronin, W. A., Graham, N. M., et al. (1997). Transmission of Mycobacterium Tuberculosis by a Fiberoptic Bronchoscope. Identification by DNA Fingerprinting. *Journal of the American Medical Association,* 278: 1093–1095.

Soares-Vieira, J. A., Billerbeck, A. E., Iwamura, E. S., et al. (2000). Parentage Testing on Blood Crusts from Firearms Projectiles by DNA Typing Settles an Insurance Fraud Case. *Journal of Forensic Sciences* 45: 1142–1143.

Stone, A. C., Starrs, J. E., and Stoneking, M. (2001). Mitochondrial DNA Analysis of the Presumptive Remains of Jesse James. *Forensic Science,* 46: 173–176.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo 9

Biorremediación

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Definir biorremediación y describir por qué es importante.
- Describir las ventajas de las estrategias de la biorremediación sobre otros tipos de tratamientos de limpieza.
- Nombrar contaminantes químicos comunes que necesitan ser limpiados, y dar ejemplos de las formas en que las sustancias químicas entran en las diferentes zonas del medio ambiente.
- Distinguir entre la biodegradación aeróbica y anaeróbica, y dar ejemplos de microbios que puedan contribuir a la biorremediación.
- Explicar por qué el estudio de los genomas de los organismos implicados en la biorremediación es una parte muy importante de las investigaciones.
- Definir fitorremediación, y explicar cómo se puede utilizar para limpiar el medio ambiente.
- Hablar sobre cómo los enfoques *in situ* y *ex situ* se pueden utilizar para biorremediar el suelo y las aguas subterráneas.
- Hablar sobre el papel de la biorremediación en una planta de tratamiento de aguas residuales.
- Dar ejemplos de cómo los organismos modificados genéticamente se pueden utilizar en la biorremediación.



Los vertederos del mundo están repletos de toneladas de basura que nosotros mismos generamos cada día. Las técnicas de biorremediación suponen una gran promesa para la limpieza de las sustancias químicas en el medioambiente, reduciendo los desperdicios en los vertederos, e incluso produciendo energía a partir de la basura de la sociedad.

Nuestro medio ambiente se ve amenazado con una frecuencia bastante alarmante. El aire que respiramos, el agua que bebemos, y la tierra de la que dependemos para cultivar plantas que nos den alimentos están siendo contaminados por culpa de las acciones de los humanos. Un estadounidense normal genera casi 2 kg de basura sólida cada día, más de 600 kg de basura cada año por persona. Aún así, los desechos de los hogares son una parte relativamente pequeña del problema. La contaminación de los desechos industriales así como de los vertidos químicos, los productos domésticos y los pesticidas han llevado a la contaminación del medio ambiente. El incremento de sustancias químicas tóxicas supone una grave amenaza para la salud de los ecosistemas de todo el mundo y de los organismos que viven en él.

Se considera que la biotecnología es una clave para identificar y resolver problemas de salud en los humanos, y que es también una herramienta muy poderosa para el estudio y la corrección de la salud en mal estado de los lugares contaminados. En este capítulo tendremos en cuenta cómo la biotecnología puede ayudar a evitar algunos de nuestros problemas de contaminación y a crear un medio ambiente más limpio para los humanos y la fauna por medio de la biorremediación.

9.1 ¿Qué es la biorremediación?

El uso de organismos vivos como bacterias, hongos y plantas para descomponer o degradar componentes químicos se conoce como **biodegradación.** Se aprovecha de las reacciones y procedimientos químicos naturales a través de los cuales los organismos descomponen componentes para obtener nutrientes y energía. Las bacterias, por ejemplo, metabolizan los azúcares para crear adenosina trifosfato (ATP) que sirve como fuente de energía para las células. Además de degradar componentes naturales para obtener energía, muchos microbios han desarrollado reacciones metabólicas únicas que pueden utilizarse para degradar las sustancias químicas creadas por el hombre. La **biorremediación** es el proceso de limpieza del medio ambiente contaminado con contaminantes químicos utilizando organismos vivos que degraden materiales peligrosos en sustancias menos tóxicas.

La biorremediación no es una aplicación nueva. Los humanos han confiado en los procesos biológicos para reducir los desechos durante miles de años. El ejemplo más simple de biorremediación es el del retrete situado fuera de la casa que depende de los microbios naturales que están en la tierra para degradar los desechos humanos. Del mismo modo, las plantas de tratamiento de aguas residuales han utilizado microbios para degradar desechos humanos durante décadas. Sin embargo, como aprenderás en este capítulo, las aplicaciones modernas en la biorremediación cuentan con diversas estrategias nuevas e innovadoras para limpiar una gran variedad de productos químicos tóxicos en entornos muy diferentes.

El aprovechamiento de lo que hacen muchos microbios es sólo un aspecto de la biorremediación. Un objetivo clave de la biorremediación es mejorar los mecanismos naturales y aumentar la velocidad de la biodegradación para acelerar los procedimientos de limpieza. En este capítulo, exploraremos algunas de las maneras en que los científicos pueden estimular microbios para degradar una gran variedad de desechos en situaciones muy dispares. Otro aspecto importante de la biorremediación es el desarrollo de enfoques nuevos para la biodegradación de desechos en el medio ambiente, lo que puede implicar el uso de microorganismos modificados genéticamente.

¿Por qué es importante la biorremediación?

Nuestra calidad de vida está relacionada directamente con la limpieza y salud del medio ambiente. Sabemos que las sustancias químicas medioambientales pueden influir en nuestra genética y que algunas pueden actuar como mutágenos causando enfermedades a los humanos. Evidentemente, existe una razón para estar preocupados por la exposición química tanto a corto como a largo plazo y por las consecuencias en los humanos y otros organismos de las sustancias químicas medioambientales.

Según algunos cálculos, en Estados Unidos se producen cada año más de 200 millones de toneladas de materiales peligrosos. Vertidos químicos accidentales pueden ocurrir y ocurren, pero normalmente estos acontecimientos son contenidos y limpiados rápidamente para minimizar el impacto en el medio ambiente. No obstante, son más peligrosas las prácticas ilegales de vertidos y los lugares contaminados por causa de negligencias, como por ejemplo el abandono de almacenes donde se guardan sustancias químicas que pueden derramarse en el medio ambiente. En 1980, el Congreso de Estados Unidos estableció el **Superfund Program** como una iniciativa de la **Agencia de Protección Medioambiental de Estados Unidos (EPA)** para contrarrestar las prácticas descuidadas e incluso negligentes del vertido y almacenamiento de sustancias químicas, así como las preocupaciones sobre cómo estos contaminantes podrían afectar la salud de los humanos y del medio ambiente. El objetivo principal del Superfund Program es localizar y limpiar los lugares con desechos peligrosos para proteger a los ciudadanos estadounidenses de zonas contaminadas.

Uno de cada cinco estadounidenses vive a una distancia de entre 5-7 km de una zona contaminada tratada por la EPA. En los 25 años desde que empezó el Superfund, la EPA ha limpiado más de 700 lugares en los Estados Unidos. Sin embargo, más de 1.000 lugares están a la espera de ser limpiados, y el Departamento de Energía calcula que al menos 220.000 lugares necesitan una remediación, y que muchos lugares nuevos se identifican cada año. Los cálculos sobre los costes de la limpieza de hoy en día señalan que las áreas contaminadas en Esta-

dos Unidos suponen más de un billón de dólares. El alcance de la contaminación de otros lugares y el número de lugares que necesitan una limpieza aumentará indudablemente este cálculo. Obviamente, la contaminación medioambiental en Estados Unidos es un problema importante que está recibiendo mucha atención. En muchos otros países, la contaminación medioambiental es un problema incluso mayor. Para saber más sobre el Superfund Program, visita su página web que aparece en la lista de la web adjunta. Por medio de esta página web también puedes comprobar los entornos contaminados cercanos a tu hogar que están en la lista de limpieza prioritaria de la Superfund.

Por medio del National Institute of Environmental Health Sciences, una sección del Natural Institutes of Health, Estados Unidos comenzó un programa llamado **Environmental Genome Project.** Uno de los objetivos principales de este proyecto es el estudio y comprensión del impacto de las sustancias químicas medioambientales en las enfermedades humanas. Esto incluye el estudio de los genes que son sensibles a los agentes medioambientales, el aprendizaje más profundo de la desintoxicación de los genes, y la identificación de polimorfismos de nucleótido simple que pueden ser indicadores del impacto medioambiental en la salud de los humanos. A la larga, este proyecto aportará datos sobre los genomas que posibilitarán que los científicos lleven a cabo estudios epidemiológicos para que comprendan mejor cómo contribuye el medio ambiente a los riesgos de las enfermedades y para que aprendan cómo la exposición medioambiental a las sustancias químicas ha influido en enfermedades específicas.

Sabemos que la contaminación es un problema que puede afectar a la salud de los humanos, y la biorremediación es un enfoque importante para la limpieza del medio ambiente. Sin embargo, existen muchas formas de limpiar contaminantes, así que ¿por qué utilizar la biorremediación? Podríamos eliminar físicamente materiales contaminados como el terreno o las zonas contaminadas que han sido tratadas químicamente, pero estos procedimientos pueden ser muy caros y, en el caso de los tratamientos químicos, pueden crear más agentes contaminantes que necesiten una limpieza. Una gran ventaja de la biorremediación es que la mayoría de los planteamientos convierten a los contaminantes dañinos en materiales relativamente inofensivos como el dióxido de carbono, el cloruro, el agua, y simples moléculas orgánicas. Debido a que los organismos vivos se utilizan para la limpieza, los procedimientos de biorremediación son generalmente más limpios que otros tipos de estrategias de limpieza.

Otra ventaja de la biorremediación es que muchos sistemas de limpieza se pueden realizar en el lugar *(in situ)* de la contaminación. Ya que los materiales contaminantes no necesitan que los transporten a otro lugar, es posible llevar a cabo una limpieza más completa sin perturbar el entorno. Además de limpiar el medio ambiente, los planteamientos biotecnológicos son esenciales para detectar contaminantes, restaurar ecosistemas, aprender sobre los problemas que pueden causar en las enfermedades de los humanos, y convertir desechos en energía valiosa. En la sección siguiente, tendremos en cuenta algunos de los principios básicos de la biorremediación en relación con algunos contaminantes químicos comunes y los entornos que éstos contaminan. Hablaremos también de algunos de los microbios y de las reacciones que son importantes para la biorremediación.

9.2 Bases de la biorremediación

Los pantanos, ciénagas y las zonas acuosas que se producen de forma natural han destacado en la biorremediación durante cientos de años. En estos entornos, las plantas y los microbios pueden absorber y degradar una gran variedad de productos químicos y convertir los contaminantes en productos inofensivos. Antes de hablar sobre cómo los organismos vivos degradan algunos contaminantes, debemos tener primero en cuenta las áreas que necesitan una limpieza y echar un vistazo a algunas de las sustancias químicas comunes que contaminan el medioambiente.

¿Qué hay que limpiar?

Desafortunadamente, la respuesta a esta pregunta es que hay que limpiar casi todo. La tierra, el aire, el agua y los sedimentos (una combinación de tierra y plantas y animales muertos situado en el fondo del agua) están afectados en todos los ambientes por la contaminación. La tierra, el agua y los sedimentos son entornos tratados más comunes que necesitan una limpieza a través de este método, aunque los nuevos planteamientos de la biorremediación se están desarrollando para detectar y limpiar el aire contaminado. Cada área presenta sus propias complejidades para la limpieza, porque el tipo de planteamiento de la biorremediación utilizado generalmente depende de las condiciones del lugar. Por ejemplo, los planteamientos para la limpieza de la tierra pueden ser muy diferentes de los que se utilizan para limpiar el agua. Del mismo modo, la superficie de la tierra se trata de forma distinta que las aguas subterráneas.

Los contaminantes pueden entrar en el medio ambiente de formas muy distintas y afectar distintos componentes del mismo. En algunos casos, los contaminantes entran en el medio ambiente a través de vertidos de petróleo, o por la ruptura de un depósito químico en un lugar industrial. Por supuesto, dependiendo del lugar del accidente, la cantidad de sustancias químicas liberadas, y la duración del vertido (horas frente a semanas o años), pueden verse afectadas partes o zonas distintas del medio ambiente. La Figura 9.1 muestra un ejemplo de la fuga de un depósito químico en una planta industrial. Inicialmente puede contaminar la superficie de la tierra y las zonas subterráneas; sin embargo, si se liberan grandes cantidades de sustancias químicas y no se le da mucha

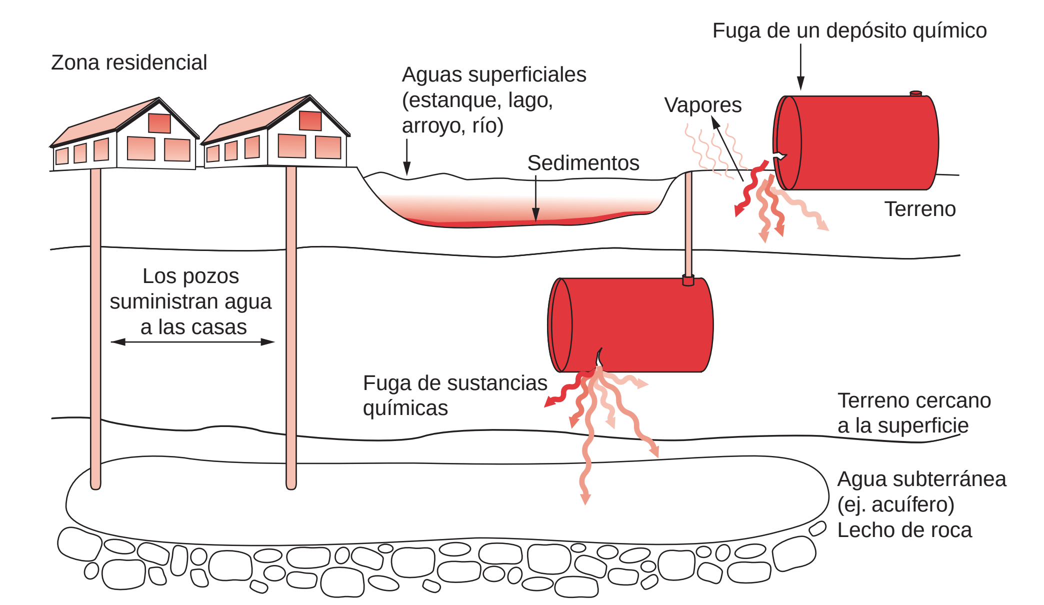


Figura 9.1 Tratamiento del medio ambiente y de las zonas contaminadas Los vertidos químicos pueden crear numerosas zonas de contaminación que pueden ser el objetivo de la biorremediación. El vertido de una fuga de un depósito de sustancias químicas, que puede estar por encima o por debajo de la tierra, puede liberar materiales que contaminan la superficie de la tierra, las zonas subterráneas, el agua superficial y el agua subterránea. En este ejemplo, la contaminación de un acuífero amenaza la salud de las personas que viven en las casas cercanas al vertido y que dependen del acuífero como fuente de agua potable.

importancia a la fuga del depósito durante un período largo, las sustancias químicas pueden introducirse profundamente en la tierra. Después de fuertes lluvias, estas mismas sustancias crean escorrentías que pueden contaminar suministros de agua de las superficies contiguas como estanques, lagos, arroyos y ríos. Las sustancias químicas pueden también filtrarse por el suelo creando lo que se conoce como **lixiviado.** El lixiviado puede contaminar las aguas subterráneas, incluidos los acuíferos, grandes bolsas de agua subterránea que son fuente común del agua que bebemos.

Las sustancias químicas pueden entrar también en el medio ambiente a través de la liberación de contaminantes en el aire, que son retenidos en las nubes y contaminan el agua de la superficie y después las aguas subterráneas cuando llueva. Los contaminantes de las fábricas industriales, vertederos, basureros ilegales, pesticidas utilizados para la agricultura, y procesos de la minería contribuyen también a la contaminación medioambiental. Ya que los enfoques de la biorremediación utilizados para limpiar contaminantes dependen del entorno que hay que tratar, la limpieza del terreno es muy diferente de la limpieza del agua. El uso de la biorremediación depende también de los tipos de productos químicos que se necesiten limpiar.

Productos químicos del medio ambiente

Las técnicas que utilizan la biorremediación para degradar los desechos humanos en una planta de tratamiento de aguas residuales son bastante diferentes (y de algún modo más sencillas) de las que se utilizan para degradar los distintos productos químicos que existen en el medio ambiente. Los materiales domésticos del día a día, como los productos de limpieza, detergentes, perfumes, cafeína, insecticidas, pesticidas, fertilizantes y medicamentos aparecen en nuestros desechos líquidos. Cada vez más los investigadores están encontrando que las vías fluviales de Estados Unidos contienen medicamentos tanto de los que necesitan receta como de los que no, entre los que se encuentran anticonceptivos, analgésicos, antibióticos, medicamentos para regular el colesterol, antidepresivos, antiepilépticos, y medicamentos para prevenir el cáncer. Otras sustancias químicas que llegan al medio ambiente son los productos que se utilizan en las fábricas industriales o, como dijimos anteriormente, los resultados de los accidentes.

Muchas sustancias químicas que provienen de fuentes muy distintas son contaminantes comunes dentro de la naturaleza. La Tabla 9.1 enumera algunas de las sustancias químicas más comunes en nuestro medio ambiente que necesitan ser limpiadas. Se sabe que muchas de estas sustancias son mutágenos en potencia y **carcinógenas,** es decir, que producen cáncer. Aunque no hablamos en detalle de los efectos de los contaminantes químicos en la salud, se sabe que la mayoría de estas sustancias químicas causan enfermedades que van desde sarpullidos en la piel hasta defectos en el feto y diferentes tipos de cáncer, así como la contaminación de las plantas y animales. Simplemente, la presencia de contaminantes en el medio ambiente lleva a un deterioro global del entorno y de la salud de los organismos que viven en él.

Además del tipo de vertido y del entorno que hay que limpiar, el tipo de contaminantes químicos perjudica también a los organismos y tipos de limpieza que se van a utilizar en la biorremediación. A lo largo de este capítulo tendremos en cuenta las estrategias para limpiar muchos de los contaminantes enumerados en la Tabla 9.1.

Fundamentos de las reacciones de limpieza

Los microbios convierten muchos productos químicos en compuestos inofensivos bien a través del **metabolismo aeróbico** (reacciones que necesitan oxígeno, O_2) o bien a través del **metabolismo anaeróbico** (reacciones en las que no se precisa oxígeno). Ambos procesos suponen *reacciones de oxidación y de reducción.* Para comprender la

Tabla 9.1 VEINTE DE LOS CONTAMINANTES QUÍMICOS MÁS COMUNES EN EL MEDIO AMBIENTE

Contaminantes químicos	Fuente
Benceno	Productos derivados del petróleo que se utilizan para hacer plásticos, nylon, resinas, caucho, detergentes y muchos otros productos
Cromo	Galvanoplastia, cuero curtido, protección contra la corrosión
Creosota	Conservante de la madera para prevenir que se pudra
Cianuro	Procedimientos de minería y fabricación de plásticos y metales
Dioxina	Decoloración de la pulpa de papel, incineración de desperdicios, y procedimientos de fabricación de sustancias químicas
Metil t-butil éter (MTBE)	Aditivo del combustible, gases de escape de los automóviles, motores de barco, depósitos de gasolina con fugas
Naftaleno	Producto del crudo y del petróleo
Nitrilo	Componentes de caucho, plástico y petróleo
Percloroetileno/tetracloroetileno (PCE), tricloroeteno (TCE) y tricloroetano (TCA)	Disolvente de limpieza en seco y agentes desengrasantes
Pesticidas (atrazine, carbamatos, clordano, DDT) y herbicidas	Sustancias químicas que se utilizan para matar insectos (pesticidas) y hierbas (herbicidas)
Fenol y otros componentes relacionados (clorofenoles)	Conservantes de la madera, pinturas, pegamentos, textiles
Bifenilos policlorados (PCB)	Transistores eléctricos, sistemas de refrigeración y aislantes
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) e hidrocarburos policlorados	Incineración de desperdicios, gases de los automóviles, refinerías petrolíferas, y fugas de aceite de los coches
Polivinilclorido	Fabricación de plásticos
Componentes radiactivos	Instituciones de investigación y médicas y plantas de energía nuclear
Surfactante (detergentes)	Fabricación de pinturas, textiles, hormigón, papel
Estrógenos sintéticos (etinol estradiol)	Componentes relacionados con las hormonas femeninas (estrógenos) creados por diversos procedimientos de fabricación industrial
Tolueno	Componente del petróleo que está presente en adhesivos, tintas, pinturas, productos de limpieza, y pegamentos
Metales traza (arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, plata)	Baterías de los coches y procedimientos de fabricación de metal
Trinitrotolueno (TNT)	Explosivo utilizado en industrias de construcción y edificación

biodegradación debes estar familiarizado con ambos tipos de reacción.

Reacciones de oxidación y reducción

La **oxidación** implica la eliminación de uno o más electrones de un átomo o de una molécula, lo que puede cambiar la estructura y las propiedades químicas de una molécula. En el caso de los contaminantes químicos, la oxidación puede hacer que las sustancias químicas sean inofensivas cambiando sus propiedades químicas. Las reacciones de oxidación ocurren a menudo junto con las **reacciones de reducción.** Durante la reducción, un átomo o una molécula obtiene uno o más electrones. Debido a que las reacciones de oxidación y reducción suceden frecuentemente juntas, estas reacciones de traspaso de electrones se conocen como **reacciones redox** (véase la Figura 9.2).

Durante las reacciones redox, las moléculas llamadas **agentes oxidantes,** también conocidos como aceptadores de electrones, eliminan los electrones durante los procedimientos de transferencia. Cuando los agentes de oxidación aceptan electrones se hacen más pequeños. El oxígeno (O_2), hierro (Fe^{+3}), sulfato (SO_4^{-2}) y nitrato (NO_3^-) están implicados a menudo en las reacciones redox de la biorremediación. Las reacciones redox son importantes en muchas funciones celulares. Por ejemplo, las células del cuerpo humano (y muchos otros tipos de células) utilizan las reacciones de oxidación y reducción para degradar azúcares y obtener energía.

La biodegradación aeróbica y anaeróbica

En algunos ambientes, como las aguas superficiales y los terrenos donde hay oxígeno, las bacterias aeróbicas de-

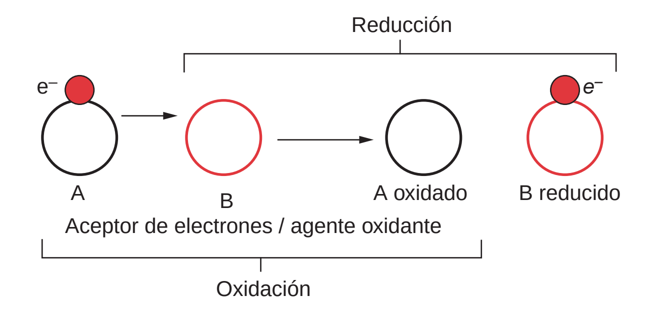
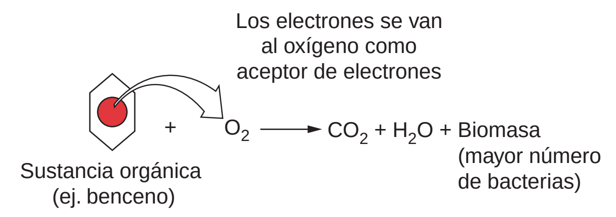


Figura 9.2 Reacciones de oxidación y reducción (redox) Las reacciones redox son importantes para la biorremediación de muchas sustancias químicas. En esta reacción de oxidación, un electrón se traspasa de la molécula A a la molécula B. La molécula B actúa como aceptor de electrones o agente oxidante. En las reacciones redox, la molécula A está oxidada, y la molécula B, que gana un electrón, está reducida.



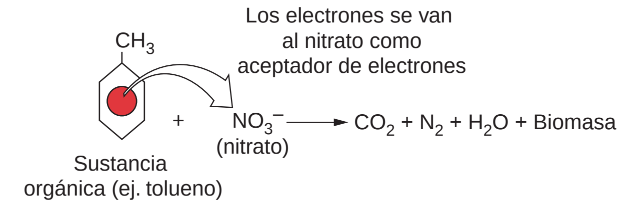


Figura 9.3 Biodegradación aeróbica y anaeróbica Las bacterias aeróbicas (aerobios) utilizan el oxígeno (O_2) como molécula que acepta electrones para oxidar contaminantes químicos orgánicos como el benceno. Durante este procedimiento, el oxígeno se reduce para producir agua (H_2O), y el dióxido de carbono (CO_2) deriva de la oxidación del benceno. La energía resultante de la degradación de contaminantes se utiliza para estimular el crecimiento de células bacterianas (biomasa). Reacciones similares tienen lugar durante la biodegradación anaeróbica, exceptuando que las bacterias anaeróbicas (anaerobios) dependen del hierro (Fe^{+3}), sulfato (SO_4^{-2}), nitrato (NO_3^-), y otras moléculas como aceptores de electrones para oxidar contaminantes.

gradan los contaminantes gracias a componentes químicos que oxidan. En las reacciones de biodegradación aeróbica, el O_2 puede oxidar diversas sustancias químicas, incluidas las moléculas orgánicas (aquellas que contienen átomos de carbono) como los productos petrolíferos (Figura 9.3). En este procedimiento, el O_2 se reduce hasta producir agua. Los microbios pueden degradar más adelante el componente orgánico del óxido para hacer más sencillas y relativamente inofensivas moléculas como el dióxido de carbono (CO_2) y el gas metano. Las bacterias obtienen energía a través de este procedimiento, que se utiliza para crear más células, al aumentar la biomasa. Algunos aerobios también oxidan **componentes inorgánicos** (moléculas que no contienen carbono) como los metales y el amoniaco.

En lugares muy contaminados y muy profundos como los acuíferos, las concentraciones de oxígeno pueden ser muy bajas. En suelos profundos, el oxígeno se difunde con dificultad en el suelo, y el escaso oxígeno existente podría ser consumido rápidamente por los aerobios. Aunque a veces resulta posible inyectar oxígeno en algunas zonas de tratamiento para estimular la biodegradación aeróbica en ambientes con poco oxígeno, la biodegradación puede ocurrir de forma natural a través del metabolismo anaeróbico. El metabolismo anaeróbico necesita también la oxidación y la reducción; sin embargo, las bacterias anaerobias (anaerobios) dependen de otras moléculas que no son el oxígeno, como los aceptores de electrones (Figura 9.3). El hierro (fe^{+3}), el sulfato (SO_4^{-2}), y el nitrato (NO_3^-) son aceptores de electrones comunes para las reacciones redox en los anaerobios (Figuras 9.3 y 9.4). Además, muchos microbios pueden desarrollar tanto metabolismos aeróbicos como anaeróbicos. Cuando la cantidad de oxígeno en el medio disminuye, pueden cambiar a un metabolismo anaeróbico para continuar con la biodegradación. Como aprenderás en la próxima sección, tanto los aerobios como los anaerobios son importantes para la biorremediación.

Los actores: microbios que metabolizan

Como aprendiste en el Capítulo 5, los microorganismos son importantes para muchas aplicaciones dentro de la biotecnología. Los científicos pueden utilizar microbios,

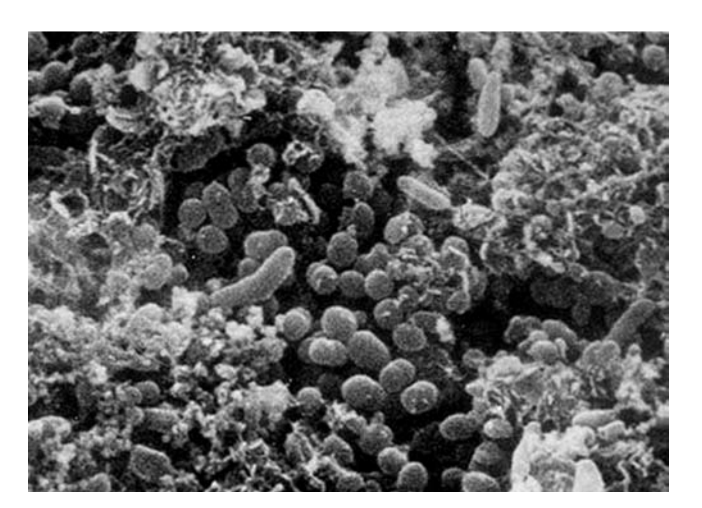


Figura 9.4 Las bacterias anaeróbicas degradan de forma eficaz muchos contaminantes El disolvente de limpieza en seco llamado percloroetileno (PCE) es un contaminante común de las aguas subterráneas; sin embargo, las bacterias anaeróbicas pueden utilizar el PCE como alimento. Al crecer bacterias en pequeñas partículas de sulfuro de hierro, que se pueden utilizar como aceptores de electrones que proporcionan el entorno químico propio para los anaerobios, las bacterias crecen rápidamente en el PCE.

especialmente bacterias, como herramientas para limpiar el medio ambiente. La capacidad de las bacterias para degradar diferentes sustancias químicas depende efectivamente de muchas condiciones. El tipo de sustancia química, la temperatura, el lugar contaminado (el agua frente a la tierra, la superficie frente a la contaminación de aguas residuales, etc.), los nutrientes y muchos otros factores influyen en la efectividad y el ritmo de la biorremediación.

En muchos lugares, la biorremediación implica las acciones combinadas de las bacterias aeróbicas y anaeróbicas para descontaminar totalmente el lugar. Por ejemplo, los anaerobios dominan normalmente las reacciones de la biodegradación que están cerca de la fuente de contaminación, donde el oxígeno es muy escaso pero el sulfato, el nitrato, el hierro y el metano están presentes para ser utilizados por los anaerobios como aceptores de electrones. Más allá de la fuente de contaminación, donde el oxígeno suele ser más abundante, las bacterias aeróbicas suelen realizar la biodegradación (Figura 9.5).

La búsqueda de microorganismos útiles para la biorremediación se desarrolla de forma más efectiva en los propios lugares contaminados. Cualquier organismo con vida en un lugar contaminado habrá desarrollado alguna resistencia a los contaminantes químicos y podría ser útil para la biorremediación. Los **microbios nativos,** aquellos que se encuentran de forma natural en lugares contaminados, son a menudo aislados, desarrollados y estudiados en laboratorios y se vuelven a liberar más tarde en los entornos limpios en grandes cantidades. Normalmente, tales microbios son los más comunes y efectivos que «metabolizan» en la biorremediación. Por ejemplo, diferentes tipos de bacterias llamadas *Pseudomonas,* muy numerosas en la mayoría de los suelos, son famosas por degradar cientos de sustancias químicas diferentes. Algunos tipos de *E. coli* son también bastante eficaces en la degradación de muchos contaminantes (recuerda que *E. coli* vive en el intestino humano y es un microbio importante para muchas técnicas de recombinación del DNA).

Se han utilizado un gran número de bacterias menos conocidas y hoy en día se está estudiando su potencial papel en la biorremediación. Por ejemplo, en la Sección 9.6 hablamos sobre posibles aplicaciones del *Deinococcus radiodurans,* un microbio que muestra una capacidad extraordinaria para tolerar los peligrosos efectos de la radiación. Recientemente, investigadores de la Universidad de Dublín descubrieron las *Pseudomonas putida,* un tipo de bacterias que pueden convertir el estireno, un componente tóxico de muchos plásticos, en un plástico biodegradable. Los científicos creen que todavía quedan por identificar muchos de los microbios más efectivos en la biorremediación. La búsqueda de nuevos microbios que metabolicen es una parte activa de la investigación en biorremediación.

Los científicos están experimentando también con tipos de algas y hongos que tienen la capacidad de biodegradar. Los hongos que degradan desechos como los *Phanerochaete chrysosporium* y *Phanerochaete sordida* pueden degradar sustancias químicas tóxicas como las creosotas, el pentaclorofenol y otros contaminantes que las bacterias degradan pobremente o no degradan. El amianto y los hongos que degradan metales pesados son los *Fusarium oxysporum* y los *Mortierella hylaine.* Los hongos son también muy importantes en la composición y degradación de aguas residuales en plantas de tratamiento de residuos sólidos y aguas desechables, de bifenilos policlorinados (PCB) y de otros componentes que se pensaba que eran resistentes a la biodegradación.

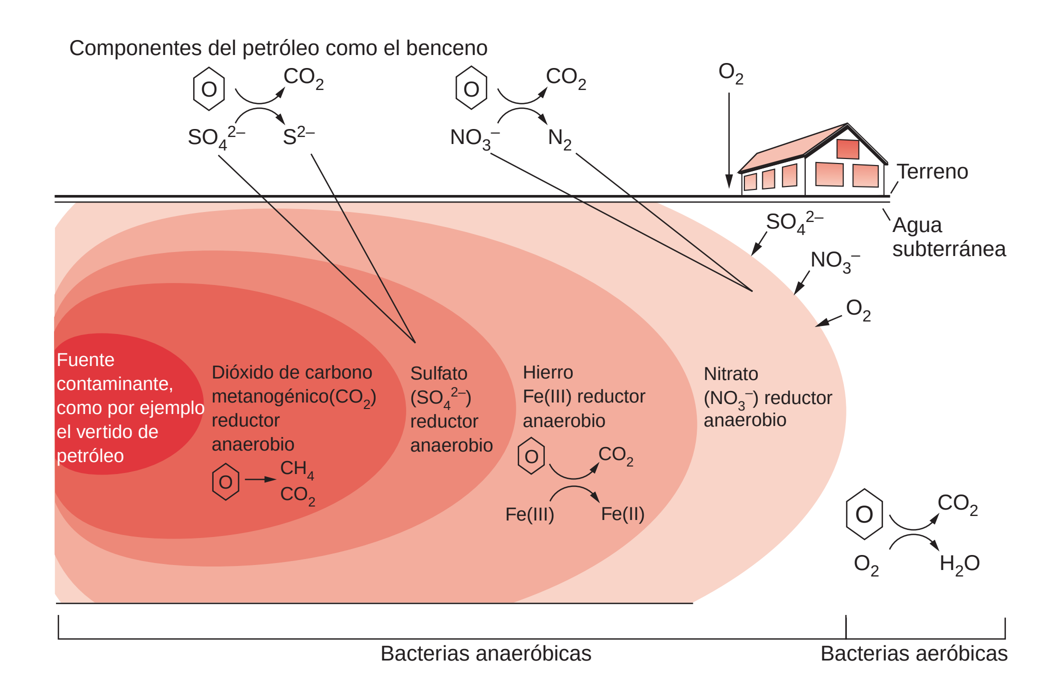


Figura 9.5 Las bacterias anaeróbicas y aeróbicas contribuyen a la biodegradación de aguas subterráneas contaminadas

Programas genómicos de biorremediación

Muchos científicos están estudiando los genomas de los organismos que se utilizan en la actualidad o que podrían utilizarse en la biorremediación. A través de la genómica, los científicos esperan identificar genes nuevos y rutas metabólicas que utilizan los organismos de la biorremediación para eliminar la toxicidad de sustancias químicas. Esto ayudará a que los científicos desarrollen estrategias de limpieza más eficaces, incluyendo cepas mejoradas de organismos de biorremediación por medio de ingeniería genética (véase la Sección 9.4.). También sería posible combinar genes que eliminen la toxicidad de los distintos microbios con diferentes bacterias especializadas en la recombinación capaces de degradar múltiples contaminantes a la vez, por ejemplo, PCB y mercurio.

Como dijimos en el Capítulo 5, el Departamento de Energía estableció el Programa del Genoma Microbiano (Microbial Genome Program, MGP) que ha secuenciado muchos más de 200 genomas microbianos, entre los que se incluyen muchos genomas para los microbios implicados en la biorremediación. Consulta la Tabla 9.2 para obtener algunos ejemplos de proyectos genómicos completados recientemente que incluyen organismos de biorremediación. Asegúrate de visitar el link Genome to Life en la página web adjunta, que puedes utilizar para acceder al MGP y a otros estudios genómicos sobre los microbios de biorremediación.

Estimular la biorremediación

Como hemos hablado anteriormente, los científicos de la biorremediación se aprovechan normalmente de los microbios nativos para degradar contaminantes. Dependiendo del contaminante, muchas bacterias nativas son muy eficaces en la biodegradación. Los científicos utilizan también un gran número de estrategias para ayudar a los microorganismos a degradar contaminantes dependiendo de los microorganismos implicados, el lugar medioambiental que se está limpiando, y la cantidad y el tipo de contaminantes químicos que se necesita descontaminar.

El **enriquecimiento de nutrientes,** también llamado **fertilización,** es un enfoque de la biorremediación en el que los fertilizantes, similares al fósforo y al nitrógeno que se aplican en el césped y en el pasto, se añaden a un entorno contaminado para estimular el crecimiento de microbios nativos que pueden degradar contaminantes (Figura 9.6.). Debido a que los organismos vivos necesitan una gran cantidad de elementos clave como carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y fósforo para construir macromoléculas, los fertilizantes añadidos le proporcionan a los microbios de la biorremediación elementos esenciales para reproducirse y crecer. En algunos casos, astillas y paja podrían ser añadidos para proporcionar a los microbios fuentes de carbono como fertilizante. Los fertilizantes se reparten normalmente por el lugar contaminado cuando bombeándolos en las aguas subterráneas o mezclándolos con la tierra. El concepto que está detrás de la fertilización es simple. Al añadir más nutrientes, los microorganismos se reproducen, aumentan en número y crecen rápidamente y así aumentan el ritmo de la biodegradación.

La **bioaumentación,** o la **siembra,** es otro enfoque que añade bacterias al medio ambiente contaminado para ayudar a los microbios nativos en la biodegradación. En algunos casos, la siembra podría hacer que se empleasen

Tabla 9.2 EJEMPLOS DE PROYECTOS DE GENOMAS DE LA BIORREMEDIACIÓN QUE ESTÁN EN MARCHA O QUE SE HAN COMPLETADO

Microorganismos	Número de genes (año en el que se completó el genoma)	Aplicaciones en biorremediación
Accumulibacter phosphatis	2006 (no completado)	Microbio más importante de una planta de tratamiento de aguas residuales, utilizado para eliminar grandes cantidades de fosfato de las aguas residuales y del fango.
Alcanivorax borkumensis	2.755 (2006)	Bacterias marinas que degradan hidrocarburos, lo que es muy eficaz para degradar muchos componentes del crudo y del petróleo refinado.
Dehalobacter restrictus	2006 (no completado)	Percloroetileno que no está tratado con cloro (PCE).
Dehalococcoides ethenogenes	1.591 (2005)	Degrada hidrógeno y cloro. Únicos organismos conocidos capaces de desclorar percloroetileno (PCE) y tricloroetileno (TCE). Limpieza de PCE y TCE en aguas residuales; degradación de dioxinas policloradas.
Geobacter metallireducens	3.676 (2006)	Reduce la capa interna del metal, ciclos de carbono, genera electricidad (véase la Figura 9.13).
Populus trichocarpa (álamo)	45.555 (2006)	Primer genoma de árbol secuenciado. Se cree que tiene mayor número de genes que cualquier organismo secuenciado hasta la fecha. Uso potencial para la reducción atmosférica de dióxido de carbono.

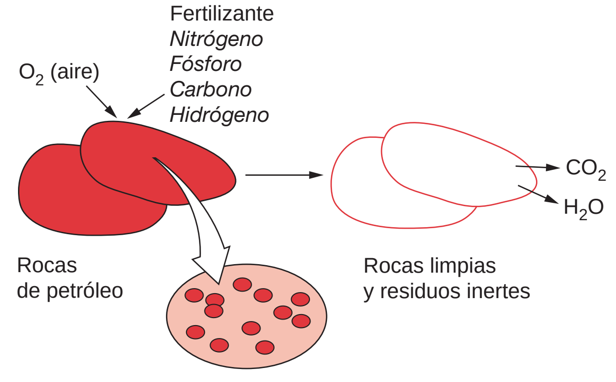


Figura 9.6 Los fertilizantes pueden estimular la biodegradación por medio de bacterias nativas La biorremediación de sustancias químicas tales como aquellas que están presentes en el petróleo puede acelerarse al añadir fertilizantes (ej. Nitrógeno y fósforo). Los fertilizantes estimulan el crecimiento y la reproducción de bacterias nativas, que degradan petróleo en componentes inertes (inofensivos) como el dióxido de carbono (CO_2) y el agua (H_2O).

microorganismos modificados genéticamente con propiedades únicas para la biodegradación. La bioaumentación no es siempre una solución eficaz, en parte porque las cepas de microbios creados en laboratorios raramente crecen y biodegradan como las bacterias nativas, y los científicos deben estar seguros de que las bacterias sembradas no alterarán la ecología del medio si persisten después de que se vaya la contaminación.

La fitorremediación

Aunque las bacterias están implicadas en la mayoría de las estrategias de biorremediación, un número creciente de estrategias están utilizando plantas para limpiar las sustancias químicas de la tierra, del agua y del aire en una aproximación llamada **fitorremediación.** Se estima que unas 350 especies de plantas reciben de forma natural materiales tóxicos. Los álamos y los enebros se han utilizado de forma satisfactoria en la fitorremediación, al igual que algunos tipos de hierba y alfalfa. En la fitorremediación, los contaminantes químicos se encuentran en las raíces de las plantas cuando absorben agua contaminada del suelo (Figura 9.7). Por ejemplo, los girasoles eliminan de forma eficaz el cesio y el estroncio radiactivo de los estanques en la planta nuclear de Chernóbil en Ucrania. Los jacintos de agua se han utilizado para eliminar el arsénico de suministros de agua en Bangladesh, India. Esto es una tecnología muy importante si consideramos que las concentraciones de arsénico exceden los niveles sanitarios en un 60 por ciento en las aguas subterráneas de Bangladesh. Después de que las sustancias tóxicas entren en las plantas, las células de las mismas pueden utilizar sus enzimas para degradar las sustancias químicas. En otros casos, las sustancias químicas se concentran en las células de las plantas, por lo que toda la planta les sirve como una «esponja» para limpiar los contaminantes. Las plantas contaminadas se tratan como desperdicios y pueden ser quemadas o tiradas. Debido a que grandes concentraciones de sustancias contaminantes matan a menudo a la mayoría de las plantas, la fitorremediación tiende a trabajar mejor donde el nivel de contaminación es más bajo, en terrenos poco profundos o en aguas subterráneas.

Muchos científicos también están investigando cómo utilizar las plantas para limpiar contaminantes del aire, algo que muchas plantas pueden hacer de forma natural: por ejemplo, eliminar el exceso de dióxido de carbono (CO_2), el principal gas de efecto invernadero que se libera de los combustibles fósiles que se queman, lo que contribuye al calentamiento global. Recientemente se secuenció el primer genoma de un árbol, el álamo negro

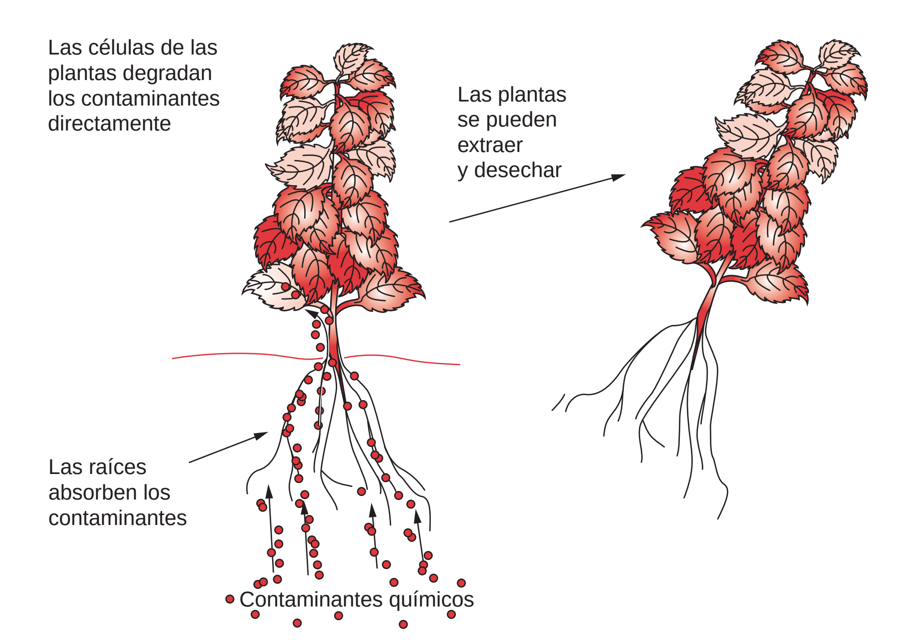


Figura 9.7 Fitorremediación Las plantas pueden ser un aditivo valioso para muchas estrategias de biorremediación. Algunas plantas degradan los contaminantes del medio directamente; otras simplemente absorben los contaminantes y deben ser extraídas y desechadas.

de Virginia (un tipo de álamo). Los álamos se utilizan normalmente en la fitorremediación, y los álamos modificados genéticamente son prometedores para la captura de niveles altos de CO_2.

La fitorremediación puede ser un método eficaz, barato, y de mantenimiento fácil para la biorremediación. Como un beneficio añadido, la fitorremediación puede ser una estrategia menos obvia y más estética. Por ejemplo, la plantación de árboles y arbustos puede mejorar visualmente la apariencia de un paisaje contaminado a la vez que lo limpia. Dos desventajas principales de la fitorremediación son que sólo se pueden tratar las capas de la superficie (hasta 50 cm de profundidad) y que la limpieza normalmente tarda varios años. En la próxima sección examinaremos entornos de limpieza específicos y diferentes estrategias de biorremediación.

9.3 Lugares y estrategias de limpieza

Existe gran variedad de estrategias de tratamiento de biorremediación, y la estrategia que se emplee depende de muchos factores. Son de principal consideración los tipos de sustancias químicas implicadas, el tratamiento del medio ambiente y el tamaño de la zona que va a ser saneada. Por lo tanto, hay que tener en cuenta alguna de las siguientes preguntas antes de empezar con los procedimientos de limpieza:

- ¿Representan las sustancias químicas un peligro para que ocurran incendios o explosiones?
- ¿Representan las sustancias químicas una amenaza para la salud humana, incluida la salud de los trabajadores que se dedican a limpiar estas zonas?
- ¿Las sustancias químicas se liberaron en el medio ambiente por medio de un único accidente o fue a causa de una filtración de un contenedor de almacenamiento durante un período largo?
- ¿Dónde tuvo lugar la contaminación?
- ¿Está la zona contaminada en la superficie de la tierra o debajo de ella? ¿Afecta esto al agua?
- ¿De qué tamaño es la zona contaminada?

Dar respuesta a estas preguntas a menudo requiere de la colaboración de biólogos moleculares, ingenieros medioambientales, químicos y otros científicos que trabajen juntos para desarrollar e implementar planes para sanear los contaminantes medioambientales.

Limpieza del suelo

Las estrategias de tratamiento tanto para el suelo como para el agua implican normalmente la eliminación de materiales químicos de un lugar contaminado a otro lugar para tratarlos, un método conocido como **biorremediación *ex situ,*** o la limpieza en el lugar contaminado sin excavar o eliminar nada, llamado **biorremediación *in situ*** (término latino que significa «en el sitio»). La biorremediación *in situ* es a menudo el método preferido de biorremediación en parte porque suele ser menos caro que los enfoques *ex situ*. También, debido a que no hace falta que se excave o se extraigan la tierra y el agua de su sitio, y se pueden tratar terrenos contaminados más grandes. Los métodos *in situ* dependen de la estimulación de microorganismos en la tierra y el agua contaminada. Aquellos métodos *in situ* que requieren degradación aeróbica utilizan a menudo la **bioventilación,** bombeando el aire o el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) dentro del suelo contaminado. El peróxido de hidrógeno se utiliza frecuentemente, ya que se degrada fácilmente en el agua y en el oxígeno para proporcionar una fuente de oxígeno a los microbios. Los fertilizantes se añaden a la tierra por medio de la bioventilación para estimular las actividades de crecimiento y degradación en las bacterias nativas.

No obstante, la biorremediación *in situ* no es siempre la mejor solución. Este método es más eficaz en terrenos arenosos que son menos compactos y permiten que los microorganismos y los materiales fertilizantes se extiendan rápidamente. Los terrenos de arcilla sólida y con muchas rocas no son lugares buenos para biorremediación *in situ,* y puede llevar años la descontaminación de sustancias químicas que persisten durante largos períodos de tiempo .

Para algunos lugares, la biorremediación *ex situ* puede ser más rápida y más eficaz que los métodos *in situ*. Como muestra la Figura 9.8, la biorremediación *ex situ* de terreno implica varias técnicas dependiendo del tipo y cantidad de terreno que hay que tratar y las sustancias químicas que se deben limpiar. Una técnica *ex situ* común se conoce como **biorremediación de fase líquida.** Este método incluye el traslado de un terreno contaminado a otro lugar y después la mezcla del terreno con agua y fertilizantes (normalmente se añade oxígeno) en grandes biorreactores en los que las condiciones de la biodegradación causada por los microorganismos que están en el terreno pueden ser controladas cuidadosamente. La fase líquida de la biorremediación es un proceso que funciona bastante bien cuando hay que limpiar pequeñas cantidades de terreno y se conoce la composición de los contaminantes químicos (Figura 9.8).

Para otras estrategias de limpieza se utilizan técnicas de la **biorremediación de fase sólida.** Los procedimientos de fase sólida requieren mucho más tiempo que los de la fase líquida y normalmente necesitan grandes cantidades de espacio; sin embargo, a menudo son las mejores estrategias para degradar ciertas sustancias químicas. Se utilizan mucho tres técnicas de fase sólida: compostación, *landfarming* y biopilas.

La **compostación** se puede utilizar para degradar los desperdicios domésticos como los restos de alimentos y los montones de césped, y se usan procedimientos similares para degradar contaminantes químicos en terrenos contaminados. En un montón de compostación, se añaden a la tierra heno, paja u otros materiales para suministrar nutrientes a las bacterias para ayudar a que de-

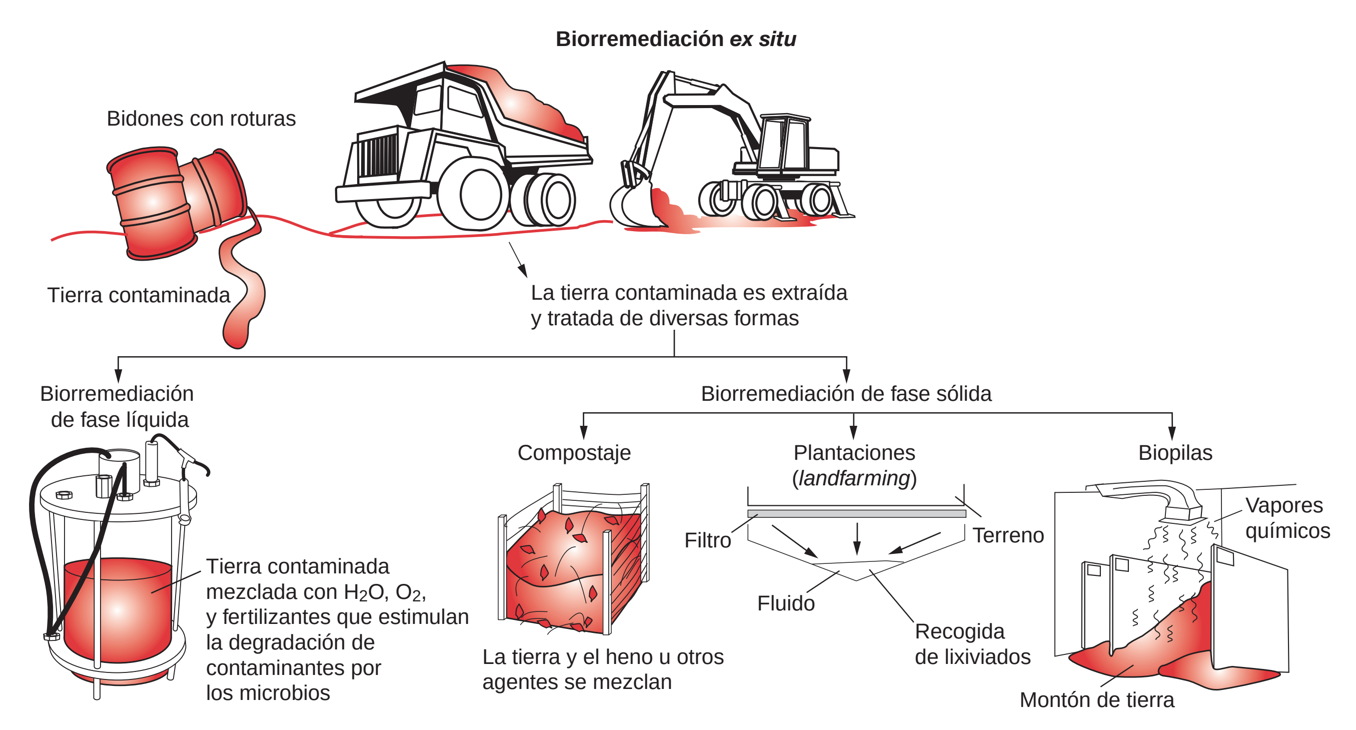


Figura 9.8 Estrategias de biorremediación *ex situ* para la limpieza del terreno Muchos métodos de limpieza del terreno implican la biorremediación *ex situ*, en la cual el terreno contaminado es extraído y después es sometido a varios tipos distintos de limpieza.

graden sustancias químicas. Las estrategias de ***landfarming* o plantación** implican la expansión de tierra contaminada en una plataforma para que el agua y el lixiviado puedan filtrarse fuera del terreno. El objetivo principal de este método es recoger el lixiviado para que el agua contaminada no pueda seguir contaminando el medio ambiente. Debido a que los terrenos contaminados se extienden en una capa más fina que si estuviesen debajo del terreno, el cultivo también permite que las sustancias químicas se evaporen del terreno y gasifiquen el terreno para que así los microbios puedan degradar mejor los contaminantes.

Las **biopilas de suelo** se utilizan cuando se sabe que las sustancias químicas del terreno se evaporan fácilmente y cuando los microbios de los montones de tierra degradan rápidamente los contaminantes (Figura 9.9). En esta aproximación, el terreno contaminado es acumulado en montones de varios metros de altura. Las biopilas se diferencian de los montones de compost en que se añaden a la tierra algunos agentes de gran tamaño y los sistemas de ventilación y tuberías se utilizan para bombear aire dentro o por encima del montón. A medida que las sustancias químicas del montón se evaporan, el vacío de la corriente de aire empuja los vapores químicos fuera del montón y los libera en la atmósfera o los retiene en filtros para traspasarlos, dependiendo del tipo de sustancias químicas. Casi todas las estrategias *ex situ* de limpieza del terreno implican el cultivo y la mezcla del terreno para dispersar nutrientes, oxigenar el lodo y aumentar la interacción de microbios con materiales contaminados para aumentar la biodegradación.



Figura 9.9 Biopilas de tierra La tierra contaminada que se ha eliminado de la zona limpiada se almacena en montones y se controlan los procesos de biorremediación para asegurar la descontaminación de la tierra antes de determinar si se puede devolver al medio ambiente.

La biorremediación del agua

El agua contaminada presenta numerosos retos. En la Sección 9.5, se expone cómo se puede tratar la superficie del agua después de grandes vertidos como los de petró-

leo. Los desperdicios del agua y las aguas subterráneas se pueden tratar de maneras distintas, dependiendo de los materiales que necesiten ser eliminados mediante biorremediación.

Tratamiento de aguas residuales

Probablemente la aplicación más famosa de la biorremediación es el tratamiento de aguas residuales para eliminar aguas fecales humanas (materiales fecales y residuos de papel), jabones, detergentes y otras sustancias químicas de uso doméstico. Tanto los sistemas sépticos como las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales dependen de la biorremediación. En un sistema séptico normal, los residuos cloacales humanos y las aguas residuales de una única familia salen del sistema de tuberías hasta la fosa séptica enterrada por debajo del suelo contiguo a la casa. En la fosa, los materiales sólidos como las heces y los residuos de papel se colocan en el fondo para que los microbios los degraden mientras los líquidos fluyen fuera de la parte superior del depósito y se dispersan bajo tierra por una zona de tierra y gravilla llamada capa séptica. Dentro de esta capa los microbios nativos degradan los desperdicios que están en el agua.

Una aplicación comercial de la biorremediación recomendada para prevenir que se atasquen las fosas sépticas es la de añadir productos como Rid-X (Figura 9.10), que son introducidos en el sistema de forma periódica. Estos productos contienen bacterias liofilizadas que son ricas en enzimas como lipasa, proteasa, amilasa y celulasa, que a su vez degradan grasas, proteínas, azúcares y celulosa que están presentes en el papel y las sustancias vegetales, respectivamente. Añadir microbios de esta manera es un ejemplo de la bioaumentación sobre la que hablamos en la sección anterior, y este tratamiento ayuda al sistema séptico a degradar grasas y aceites que se utilizan para cocinar, excrementos, productos de papel y otros materiales que pueden atascar el sistema.

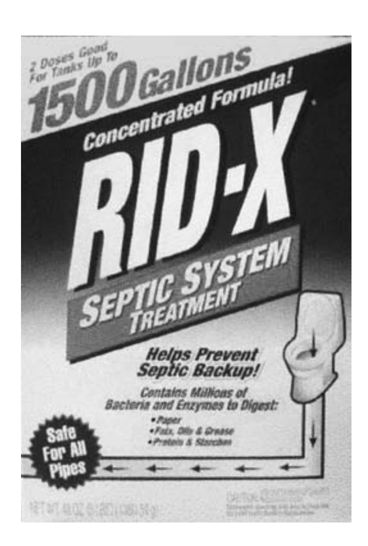


Figura 9.10 **Los aditivos para los depósitos sépticos estimulan la biorremediación de los desperdicios de los hogares**

Las plantas de tratamiento de aguas residuales (aguas cloacales) son sistemas bastante complejos y bien organizados (Figura 9.11). El agua de los hogares que entra en las cloacas se bombea dentro de un centro de tratamiento donde las heces y los productos de papel son enterrados y filtrados en pequeñas partículas, que se trasladan fuera de las fosas para crear un material parecido al barro llamado **fango.** El agua que sale de estas fosas se llama **agua residual.** El agua residual se envía a fosas con oxígeno donde las bacterias aeróbicas y otros microbios oxigenan materiales orgánicos presentes en las aguas residuales. En estas fosas, el agua se vierte sobre rocas o plásticos cubiertos con biocapas de microbios que degradan de forma activa los materiales orgánicos del agua.

De forma alternativa, el agua residual se traspasa a sistemas de fango activados, fosas que contienen grandes cantidades de microbios que degradan agua que han crecido en entornos controlados cuidadosamente. Normalmente, estos microbios flotan libremente en el agua, pero en algunos casos pueden crecer en filtros con flujos de agua contaminados. Finalmente, el agua residual se desinfecta con un tratamiento de cloro antes de devolverla a los ríos y océanos.

El fango es bombeado dentro de tanques donde las bacterias anaeróbicas lo degradan. En estos tanques suele haber bacterias que producen metano y gases de dióxido de carbono. El gas metano se recoge y se utiliza a menudo como combustible para poner en marcha los equipos de una planta de tratamiento de aguas residuales. Los gusanos diminutos que suele haber en el fango, ayudan también a descomponer el fango en pequeñas partículas. Nunca se puede descomponer totalmente el fango, pero una vez que se han eliminado los materiales tóxicos, se seca y se puede utilizar como fertilizante.

Los científicos han descubierto recientemente unas bacterias llamadas *Candidatus «Brocadia anammoxidans»* que poseen una habilidad única para degradar amonio, un residuo importante que se encuentra en la orina (Figura 9.12). Es preciso eliminar el amonio de las aguas residuales antes de que el agua sea devuelta al entorno porque grandes cantidades de amonio pueden afectar al medio, favoreciendo la producción de algas y disminuyendo la concentración de oxígeno en las vías fluviales. Normalmente, las plantas de aguas residuales dependen de bacterias aeróbicas como las *Nitrosomonas europea* para oxidar el amonio en un conjunto de reacciones con muchos pasos. Sin embargo, las *Candidatus «Brocadia anammoxidans»* son capaces de degradar el amonio en un único paso según las condiciones anaeróbicas, un proceso llamado el proceso de anammox. Las plantas de tratamiento de aguas residuales podrían utilizar dentro de poco esta cepa que elimina el amonio más eficazmente de las aguas residuales.

La limpieza de las aguas residuales

Con la excepción de los vertidos cercanos a las costas, la mayoría de los vertidos químicos, como los vertidos de petróleo, tienen lugar en entornos marinos a menudo si-

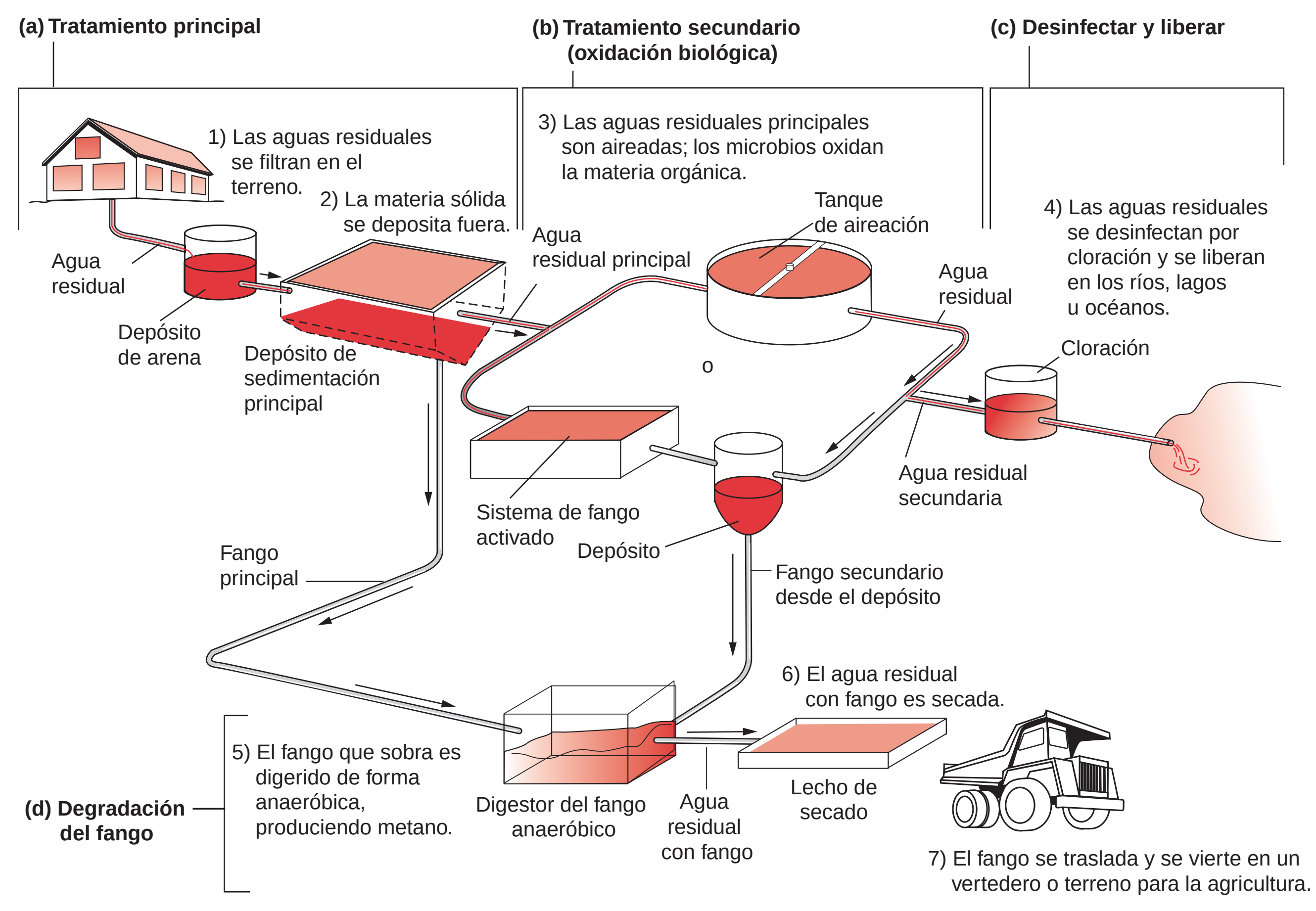


Figura 9.11 Tratamiento de aguas residuales Las instalaciones de tratamiento del agua residual utilizan bacterias aeróbicas y anaeróbicas para degradar materiales orgánicos como las heces humanas y los detergentes tanto en el fango como en el agua (agua residual).

tuados lejos de zonas pobladas. Sin embargo, la contaminación de agua dulce se produce normalmente cerca de zonas pobladas y representa una gran amenaza para la salud humana al contaminar las fuentes de agua potable, tanto las aguas subterráneas como las aguas superficiales y los embalses. La contaminación de las aguas residuales es un problema común en muchas zonas de Estados Unidos. El agua potable de casi el 50 por ciento de la población estadounidense viene de fuentes de aguas subterráneas y, según algunos cálculos, un gran porcentaje de reservas de aguas subterráneas en Estados Unidos contienen contaminantes que podrían tener un impacto en la salud humana. El agua subterránea contaminada puede a veces ser muy difícil de limpiar porque a menudo se queda atrapada en la tierra y en las rocas y no existe una forma fácil de «lavar» los acuíferos.

A menudo se utiliza una combinación de aproximación *ex situ* e *in situ*. Por ejemplo, cuando el agua subterránea está contaminada con petróleo o gasolina, estos contaminantes suben a la superficie del acuífero. Parte de este petróleo o gas puede ser bombeado directamente hacia arriba, pero la porción mezclada con las aguas subterráneas debe ser bombeada a la superficie y pasar a través de un biorreactor (Figura 9.13). Dentro del biorreactor, las bacterias que están en biocapas crecen por encima de una pantalla o red y degradan los contaminantes. A menudo se añaden al biorreactor fertilizantes y oxígeno. El agua limpia procedente del biorreactor que contiene fertilizantes, bacterias y oxígeno, es bombeada de nuevo dentro del acuífero para la biorremediación *in situ* (Figura 9.13).

Transformación de los desechos en energía

Muchos vertederos de Estados Unidos están saturados, la basura de las casas y negocios los rebosa literalmente. La masa de nuestros desechos domésticos consiste en restos de alimentos, cajas, desperdicios de papel, envoltorios de cartón de alimentos empaquetados y artículos similares. También hay desperdicios químicos como detergentes, líquidos que se utilizan para la limpieza, pinturas, esmalte de uñas y barnices, a pesar del hecho de que la mayoría de los Estados están intentando reducir la cantidad de des-



Figura 9.12 El biorreactor contiene *Candidatus «Brocadia anammoxidans»*, bacterias anaeróbicas que pueden degradar amonio Las nuevas propiedades metabólicas permiten que estos anaerobios degraden el amonio de las aguas residuales en un solo paso.

perdicios químicos que pueden tirarse a la basura habitual.

Los científicos están trabajando en estrategias para reducir los desperdicios, incluyendo biorreactores que contienen bacterias anaeróbicas que pueden convertir los desechos de los alimentos y otra basura en nutrientes para el terreno y gas metano. El gas metano se puede utilizar para producir electricidad, y los nutrientes del suelo pueden comercializarse como abono para su uso en granjas, viveros y otras industrias agrícolas. Están trabajando también en estrategias de sembrado para reducir las sustancias químicas en los vertederos que si no se filtrarían en el terreno y contaminarían el agua tanto superficial como subterránea. Si tienen éxito, estas aplicaciones de biotecnología podrían ayudar a reducir la cantidad de desperdicios y aumentar en gran medida el espacio utilizable de muchos vertederos.

Los científicos de biorremediación están estudiando también los sedimentos contaminados de los fangos residuales y los fondos de los océanos y lagos como una fuente de energía sin explorar. Los sedimentos en los lagos y océanos son ricos en materias orgánicas a partir de la descomposición de materiales como hojas y organismos muertos. Dentro de esta «basura» están los anaerobios que utilizan las moléculas orgánicas de los sedimentos para generar energía. El término *electicigens* se está utilizando para describir los microbios que generan energía que tienen la capacidad de oxidar componentes orgánicos en dióxido de carbono y traspasar electrones a electrodos. La *Desulfuromonas acetoxidans* es una bacteria marina anaeróbica que utiliza hierro como aceptor de electrones para oxidar las moléculas orgánicas de los sedimentos. Los investigadores están explorando formas de electrones a partir de *D. acetoxidans* y otras bacterias como las *Geobacter metallireducens* y las *Rhodoferax ferrireducens* como técnica para capturar energía en biobaterías bacterianas que se pueden utilizar como células de combustible que proporcionan una fuente de electricidad (Figura 9.14). Los investigadores de la Universidad de Massachusetts han demostrado que los tipos de microbios *electicigens* pueden crear electricidad con una gran eficacia y aunque los estudios preliminares sugieren que esta técnica promete, se necesitan más investigaciones (Figura 9.15).

Aunque las estrategias de la biorremediación han limpiado eficazmente muchos entornos contaminados, ésta no es la solución para todos los lugares contaminados. Por ejemplo, la biorremediación es ineficaz cuando los

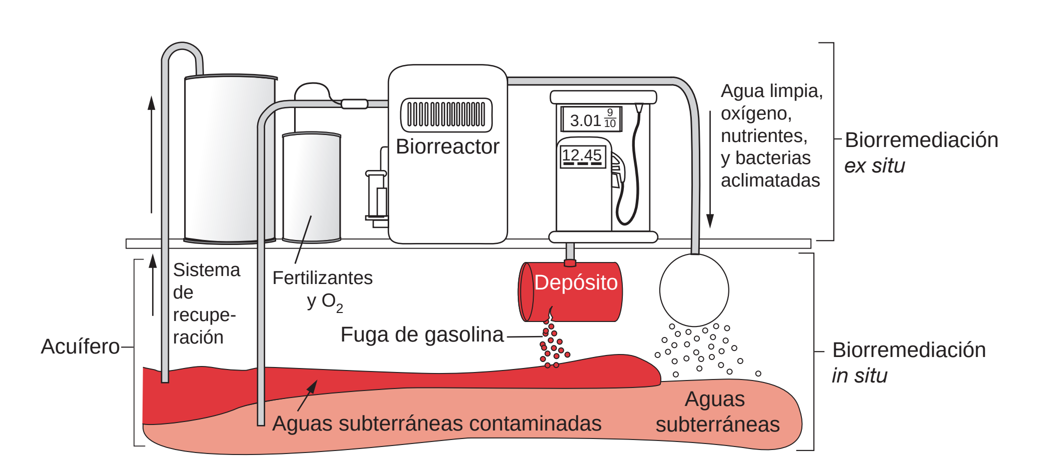


Figura 9.13 Biorremediación *ex situ* e *in situ* de aguas residuales Las fugas de gasolina en reservas de agua subterránea pueden limpiarse mediante el sistema (*ex situ*) que se utiliza por encima del terreno combinado con la biorremediación *in situ*.

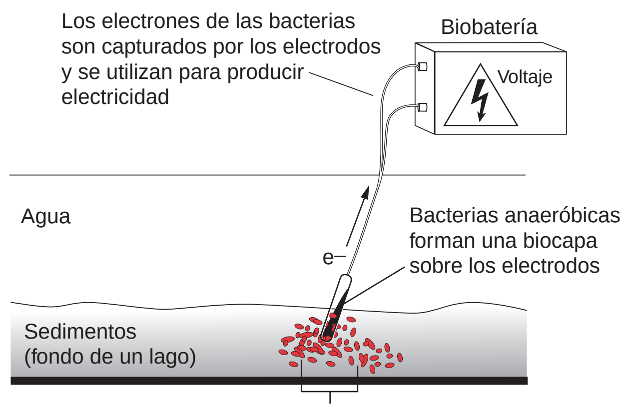


Figura 9.14 Los sedimentos contaminados pueden ser una fuente de energía todavía sin explorar Los científicos han descubierto que las bacterias anaeróbicas que están en los sedimentos pueden ser una fuente de energía. Debido a que estas bacterias utilizan reacciones redox para degradar las moléculas de los sedimentos, los electrones pueden ser capturados por electrodos, que pueden traspasar los electrones a generadores para crear electricidad.

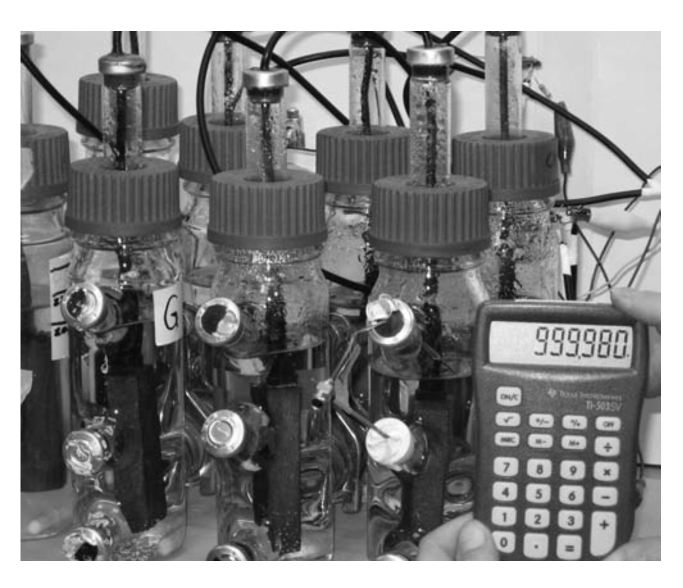


Figura 9.15 Células de combustible propulsadas por microbios Los investigadores de la Universidad de Massachusetts han demostrado que las células de los combustibles Geobacter pueden convertir eficazmente azúcares en electricidad.

entornos contaminados contienen grandes concentraciones de sustancias muy tóxicas como metales pesados, componentes radiactivos y moléculas orgánicas ricas en cloro porque estos componentes matan normalmente a los microbios. Por lo tanto, se necesita descubrir nuevas estrategias e intentar abordar algunos de estos retos de limpieza. Es probable que algunas de estas nuevas estrategias de biorremediación impliquen el uso de microorganismos modificados genéticamente, que es el tema de la siguiente sección.

9.4 Aplicación de cepas modificadas genéticamente para limpiar el medio ambiente

La biorremediación ha dependido tradicionalmente de la estimulación de microorganismos naturales; sin embargo, muchos microbios nativos no pueden degradar ciertos tipos de sustancias químicas, especialmente los componentes que son muy tóxicos. Por ejemplo, algunos productos químicos orgánicos producidos durante la creación de plásticos y resinas son resistentes a la biodegradación y pueden persistir en el medio ambiente durante varios cientos de años. Muchos componentes radiactivos también matan microbios, y así previenen la biodegradación. Para sanear algunos de estos contaminantes pertinaces y particularmente tóxicos, necesitamos usar bacterias y plantas alteradas genéticamente. El desarrollo de tecnologías de DNA recombinante ha posibilitado que los científicos creen organismos modificados genéticamente capaces de mejorar los procedimientos de la biorremediación.

Bacterias comedoras de petróleo

Los primeros microbios modificados genéticamente eficaces para su uso en la biorremediación fueron creados en la década de 1970 por Ananda Chakrabarty y sus colegas en la General Electric. Este trabajo fue desarrollado antes de que la clonación del DNA y las tecnologías de DNA recombinante estuviesen al alcance de muchos; ¿cómo consiguió esto Chakrabarty? Este hombre fue capaz de aislar cepas de *Pseudomonas* de terrenos contaminados con diferentes tipos de sustancias químicas, entre las que se incluían pesticidas y crudo. Identificó cepas que mostraron la capacidad de degradar componentes orgánicos como naftaleno, octano y xileno. La mayoría de estas cepas pueden crecer en presencia de estos componentes, ya que contienen plásmidos que codifican genes para degradar cada compuesto. Chakrabarty cruzó estas cepas y produjo una cepa que contenía distintos plásmidos. Conjuntamente, las proteínas codificadas por estos plásmidos pudieron degradar de forma efectiva muchos de los componentes del crudo. Por este trabajo, Chakrabarty recibió el premio a la primera patente estadounidense por la creación de un organismo vivo modificado genéticamente. Sin embargo, la decisión de esta patente fue muy polémica y estuvo interrumpida en los tribunales durante unos diez años. Los primeros temas debatidos fueron si las formas de vida podían ser patentadas y si la recombinación de bacterias de Chakrabarty debería ser considerada como un producto de la naturaleza o como una invención. Finalmente, el Tribunal Supremo dictaminó que el desarrollo de la recombinación de *Pseudomonas* fue una invención digna de una patente.

El método de Chakrabarty no fue tan eficaz como parecía. El crudo contiene cientos de componentes y sus bacterias recombinantes pueden degradar sólo algunos de ellos. La mayoría de las sustancias químicas que están pre-

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Los microcosmos ofrecen mayores beneficios

Los científicos están continuamente investigando formas innovadoras de biodegradar diferentes componentes químicos que estén bajo multitud de condiciones medioambientales. La industria está continuamente creando nuevos tipos de sustancias químicas, y muchas de ellas se pasarán inevitablemente al medio ambiente. Para estar un paso por delante de los nuevos contaminantes medioambientales, los investigadores de la biorremediación deben continuar desarrollando nuevas estrategias de limpieza.

¿Cómo pueden los científicos estudiar la biorremediación de una sustancia química nueva que nunca ha estado en el medio ambiente? Obviamente no pueden contaminar grandes zonas ni esperar a que ocurra un desastre a gran escala como el vertido del Exxon Valdez antes de probar sus teorías sobre cómo limpiar esta nueva sustancia química. Uno de los enfoques más prácticos para ensayar nuevas estrategias de biorremediación es hacer un **microcosmos,** una prueba medioambiental construida artificialmente que imita las circunstancias de un medio con vida real. Algunos microcosmos están formados por pequeños reactores (del tamaño aproximado de un cubo de 19 litros) que contienen tierra, agua, contaminantes y microbios a los que le realizarán pruebas debido a su capacidad para la biorremediación. Un microcosmos puede ser tan solo unos pocos gramos de tierra en un tubo de ensayo, aunque a menudo los aumentan para que parezcan ambientes más grandes. Por ejemplo, los estanques grandes, que pueden estar tanto cubiertos como descubiertos, o las parcelas que están preparadas para evitar que los contaminantes se escapen pueden usarse como microcosmos. Mediante microcosmos cuidadosamente diseñados, los investigadores de la biorremediación pueden intentar simular, en modelos a pequeña escala, un lugar que necesite ser limpiado.

Cuando se han identificado organismos nativos o modificados genéticamente con potencial para la biorremediación, los estudios en biorreactores o en pequeñas zonas aisladas de agua o tierra pueden ser cruciales para la determinación de si estos organismos limpiarán eficazmente la contaminación en grandes áreas. Mediante la cuidadosa manipulación de las condiciones del medio ambiente en los microcosmos, los científicos pueden estimar la capacidad de los organismos para degradar diferentes contaminantes bajo diversas condiciones incluyendo las de humedad, temperatura, nutrientes, oxígeno, pH y tipos de suelo.

Los estudios sobre los microcosmos pueden incluir incluso la prueba de microbios experimentales en aguas subterráneas contaminadas o terrenos contaminados que se introducen en el microcosmos, pudiéndose controlar la velocidad de degradación y el tiempo de limpieza. Los científicos pueden también llevar a cabo experimentos para estudiar la biorremediación de mezclas de contaminantes.

En un intento por conseguir los mejores resultados de limpieza, los científicos analizarán los datos recopilados y diseñarán experimentos nuevos. Un método de limpieza que tiene éxito en un microcosmos no garantiza el éxito en el campo real. Sin embargo, al probar aproximaciones de biorremediación en los microcosmos, se puede ahorrar mucho tiempo y dinero antes de decidir si tendrá éxito en la limpieza de un entorno contaminado en el campo.

sentes en el crudo no se ven casi afectadas por los organismos recombinantes. Como consecuencia, el desarrollo de bacterias recombinantes con distintas propiedades de degradación es un área enorme de investigación. En el futuro, podría encontrarse una estrategia útil para la limpieza del crudo que liberara multitud de cepas bacterianas, cada una con la capacidad de degradar diferentes componentes del crudo.

Ingeniería de *E. coli* para limpiar metales pesados

Los metales pesados como el cobre, el plomo, el cadmio, el cromo y el mercurio pueden dañar gravemente a los humanos y a la fauna. El mercurio es un metal extremadamente tóxico que puede contaminar el medio ambiente. Se utiliza en la fabricación de plantas, baterías, interruptores eléctricos, instrumentos médicos y de muchos otros productos. El mercurio, y un componente relacionado que se llama metilmercurio, pueden acumularse en organismos a través de un procedimiento conocido como **bioacumulación.** En la bioacumulación, los organismos que están en la parte superior de la cadena alimenticia contienen concentraciones más altas de sustancias químicas que los organismos que están más abajo. Por ejemplo, en las reservas de agua, el mercurio lo pueden ingerir peces pequeños, que a su vez pueden ser comidos por pájaros, peces más grandes, nutrias, mapaches, y otros animales entre los que se incluyen los humanos. Los peces y los pájaros grandes necesitan comer muchos peces pequeños, por lo tanto, acumulan más mercurio en su cuerpo que los peces pequeños y los pájaros que comen menos. Igualmente, si una persona comiese muchos peces grandes como fuente principal de su alimentación, esa persona acumularía con el tiempo grandes cantidades de mercurio. El consumo regular de pescado o marisco contaminado con mercurio y metilmercurio representa una gran amenaza para la salud humana, como por ejemplo defectos de nacimiento y daños cerebrales. Por estas razones, en muchas zonas de Estados Unidos, los médicos recomiendan que las mujeres embarazadas y los niños coman cantidades pequeñas de ciertos tipos de pescado, como el pez espada y el atún fresco, y que no los tomen más de una vez a la semana.

Debido a que el mercurio es tóxico en dosis muy bajas, la mayoría de las estrategias actuales para elimi-

narlo de las reservas de agua contaminadas no son lo suficientemente eficaces para llegar a satisfacer estándares aceptables. Los científicos han desarrollado cepas modificadas por ingeniería genética de *E. coli* que pueden ser útiles para la limpieza del mercurio y otros metales pesados. También han identificado proteínas unidas al metal presentes de forma natural en las plantas y en otros organismos. Dos de los tipos de proteínas mejor conocidas, las metalotioneínas y las fitoquelatinas, tienen una gran capacidad para unirse a los metales. Para que funcionen estas proteínas, los metales deben entrar en las células. Los científicos han manipulado el *E. coli* para expresar proteínas de transporte que permiten el consumo rápido de mercurio en el citoplasma de las células bacterianas, donde el mercurio se puede unir a las proteínas que están unidas al metal.

Algunas de estas bacterias modificadas genéticamente pueden absorber directamente el mercurio; otras que se unen al mercurio pueden crecer en biocapas para actuar como esponjas absorbiendo el mercurio de las reservas de agua. Las biocapas deben cambiar periódicamente para eliminar las bacterias que contienen mercurio. Del mismo modo, las algas con una única célula modificada genéticamente contienen genes de metalotioneínas y bacterias conocidas como cianobacterias que son prometedoras por su capacidad para absorber cadmio, otro metal pesado muy tóxico conocido por causar problemas muy graves en la salud de los humanos.

Biosensores

Los investigadores han desarrollado por ingeniería genética cepas de las bacterias *Pseudomonas fluorescens* que pueden degradar de forma eficaz estructuras complejas de carbono e hidrógeno llamadas hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y otras sustancias químicas tóxicas. Al usar la tecnología de DNA recombinante los científicos han sido capaces de unir genes bacterianos que codifican enzimas que pueden metabolizar los contaminantes con genes tales como los genes *lux* de las bacterias marinas bioluminescentes. Recuerda del Capítulo 5 que los genes *lux* se utilizan a menudo como genes informadores o reporteros, ya que codifican las enzimas luciferasas que emiten luz. Cuando los HAP se degradan, las bacterias emiten luz que puede ser utilizada para controlar los niveles de biodegradación. Se están utilizando técnicas similares para desarrollar **biosensores** de las bacterias recombinantes que contienen genes *lux.* Este tipo de métodos se están utilizando mucho para desarrollar muchos tipos diferentes de biosensores capaces de detectar diversos contaminantes medioambientales. En el futuro, los microbios modificados genéticamente tendrán un papel muy importante como biosensores y serán piezas clave en muchas aplicaciones de biorremediación. En la próxima sección, hablaremos de dos de los ejemplos mejor estudiados y con mayor publicidad de biorremediación.

Plantas modificadas genéticamente y fitorremediación

En los últimos años los científicos han estado trabajando también en plantas modificadas genéticamente para mejorar sus capacidades de fitorremediación. Un área de esta investigación ha estado desarrollando plantas que pueden eliminar sustancias químicas de explosivos militares y armas de fuego que han contaminado el suelo y las aguas subterráneas. El hexahidro-1,3,4-trinitro-1,3,5-triazino (comúnmente conocido como explosivo de demolición real, RDX) y 2,4,6-trinitolueno (TNT) son dos de los contaminantes químicos más comunes que surgen de la producción, uso y venta de explosivos. Las sustancias químicas se mueven fácilmente por el terreno y contaminan las aguas subterráneas. Tanto el RDX como el TNT son altamente tóxicos para la mayoría de los organismos y representan una amenaza muy grave para la salud de los humanos y de la fauna.

Recuerda que el TNT estaba entre los 20 contaminantes químicos más comunes enumerados en la Tabla 9.1 y que el EPA considera el TNT y el RDX como sustancias químicas tóxicas con prioridad para ser eliminadas del medio ambiente. Estos contaminantes son un problema de contaminación enorme en todo el mundo. Increíblemente, existen cientos de toneladas de estos componentes en lugares de todo el mundo y decenas de miles de kilómetros se consideran inseguros.

Algunas bacterias y plantas han mostrado que degradan TNT con poca eficacia. La degradación de RDX es incluso menos eficaz debido a su estructura química. En los últimos años, los científicos han usado la ingeniería genética para crear plantas transgénicas que pueden llegar a ser muy eficaces en la fitorremediación de TNT y RDX. Una cepa transgénica de tabaco que contenga un gen de nitroreductasa del *Enterobacter cloacae* convierte eficazmente el TNT en sustancias químicas menos tóxicas (Figura 9.16). Recientemente, los científicos incorporaron un gen llamado *xplA* de las bacterias *Rhodococcus rhodochrous* dentro de las *Arabidopsis thaliana.* El gen *xplA* produce una enzima que degrada RDX llamada citocromo P450, que puede degradar RDS una vez que sea absorbido en la planta (véase la Figura 9.16).

Ahora podría ser posible crear plantas que puedan degradar tanto TNT como RDX y desde que el genoma de los álamos se ha secuenciado, los científicos de biorremediación que trabajan en las plantas modificadas genéticamente están ilusionados con la posibilidad de plantar álamos transgénicos y otros árboles de crecimiento rápido cuyas profundas raíces puedan limpiar TNT y RDX por debajo de la superficie del terreno. En la próxima sección, analizaremos tres de los ejemplos mejor estudiados y más conocidos de la biorremediación en acción.

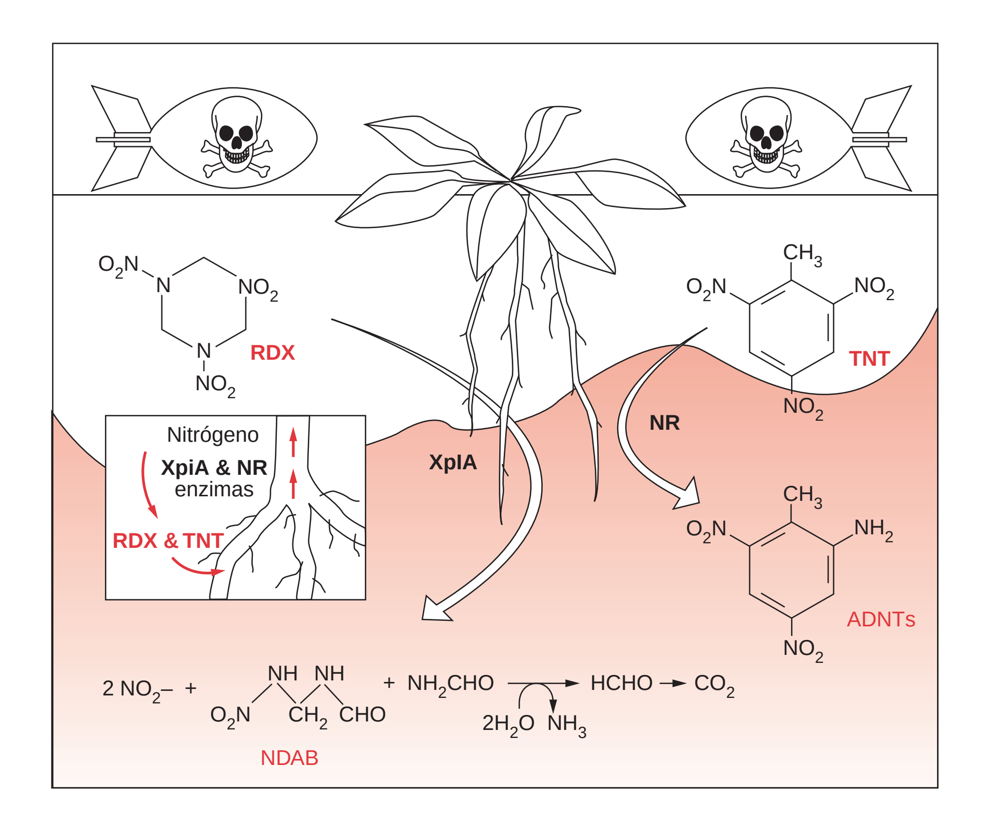


Figura 9.16 Fitorremediación de explosivos tóxicos utilizando plantas transgénicas Las plantas transgénicas modificadas con los genes *XplA* o *NR* para degradar RDX o TNT, respectivamente, absorben los productos explosivos por medio de sus raíces y después los degradan en componentes menos tóxicos (aminodinitrotoluenos [DNAT] o 4-nitro-2,4-diazabutanal [NDAB] o componentes que no son tóxicos (NH_3, CO_2). Las plantas modificadas con el gen *XplA* utilizan los productos de degradación del RDX para estimular su crecimiento.

9.5 Desastres medioambientales: estudio de casos de biorremediación

La mayoría de las aproximaciones de biorremediación implican el saneamiento de zonas contaminadas que son relativamente pequeñas, de un tamaño de varios cientos de kilómetros cuadrados. Sin embargo, se ha aprendido algo muy importante sobre la eficacia de diferentes estrategias de biorremediación al estudiar desastres medioambientales a gran escala que se han tratado por medio de biorremediación.

El combustible de los aviones y Hanahan, Carolina del Sur

En Hanahan, Carolina del Sur, un barrio de las afueras de Charleston, durante el año 1975 tuvo lugar una fuga de unos 360.000 litros de combustible de avión basado en queroseno. A pesar de las numerosas medidas de limpieza, no se pudo evitar que el vertido fuese absorbido por la arena del terreno y contaminase la capa freática. Diez años más tarde la contaminación llegó a una zona residencial. La eliminación del terreno contaminado resultó ser poco práctica debido a la extensión del área contaminada y a que la eliminación de las aguas subterráneas contaminadas no acabaría con el problema.

Los científicos del Estudio Geológico de Estados Unidos (U.S. Geological Survey, USGS) determinaron que los microbios nativos del terreno estaban degradando componentes tóxicos del combustible, y también comprobaron que añadir fertilizantes a estos microbios estimularía de forma drástica el éxito de la biorremediación. Este lugar fue uno de los primeros campos de aplicación de la biorremediación. Los científicos de la USGS añadieron nutrientes a las aguas subterráneas y al mismo tiempo eliminaron las aguas subterráneas contaminadas. A principios de la década de 1990, la contaminación en las reservas de aguas residuales se redujo un 75 por ciento y quedó demostrado el potencial de la biorremediación como una estrategia de limpieza eficaz.

El vertido de petróleo del Exxon *Valdez*

El mundo depende mucho del crudo y de los productos derivados del petróleo. Los derivados del petróleo no se utilizan sólo como gasolina y gasóleo para los automóviles, sino que son la base para cientos de productos de uso diario como el plástico, las pinturas, los cosméticos y los detergentes. Solo en Estados Unidos utilizan más de 250.000 millones de litros de petróleo cada año, más de 100.000 millones de los cuales son importados. Cuando se transporta el crudo, siempre se suele producir algún vertido. Los accidentes de petroleros derraman casi 100 millones de litros de crudo cada año, e incluso volúmenes más grandes de petróleo contaminan en nuestros mares a través de derrames y fugas que ocurren de forma natural.

Los vertidos de petróleo tienen un impacto enorme en el medio ambiente, específicamente en la fauna (Fi-

gura 9.17a). Normalmente los vertidos grandes no afectan directamente a la vida humana. Esto se debe a que la mayoría de los grandes vertidos suceden en océanos o bahías que están lejos de playas y de las reservas de agua. Los humanos se ven afectados en mayor medida por vertidos locales pequeños, como por ejemplo, la fuga de depósitos subterráneos de una gasolinera que puede suponer una amenaza local para el agua potable.

En el año 1989, el petrolero Exxon *Valdez* encalló en un arrecife en Price William Sound en Alaska, liberando aproximadamente 200 millones de litros de crudo y contaminando más de 1.600 kilómetros de la línea costera de Alaska. Se llevaron a cabo muchos métodos experimentales de biorremediación para limpiar este vertido. En muchos sentidos, Prince William Sound fue un gran laboratorio de biorremediación para probar nuevas estrategias de limpieza.

Como se hace en la mayoría de los vertidos de petróleo de gran tamaño, se utilizan en primer lugar medidas de limpieza físicas para contener y extraer grandes volúmenes de petróleo. Se utilizaron primero las bombas de contención o las picotijeras, que pueden ser redes superficiales, vallas o aparatos hinchables como boyas que flotan en la superficie, se fijan en el lugar o son remolcadas por un barco para recoger y contener el petróleo (Figura 9.17). Las aspiradoras se utilizaron para bombear el petróleo desde la superficie hacia depósitos. Las playas y las rocas fueron limpiadas utilizando agua dulce a alta presión para descomponer el petróleo. Al diluir y disolver el petróleo en el mar, éste se dispersó gradualmente. Otra aproximación biotecnológica de limpieza utilizó productos derivados de citrus para juntar el crudo y facilitar su recogida en tampones absorbentes. Sin embargo, después de utilizar todos estos métodos físicos para eliminar la masa de petróleo, millones de litros de petróleo se quedaron aún pegados a la arena, rocas y gravilla tanto en la superficie como por debajo de la superficie de línea costera contaminada. Aquí es cuando empieza a funcionar la biorremediación.

En el primer paso del proceso de biorremediación, el nitrógeno y los fertilizantes de fósforo se aplicaron sobre la línea costera para estimular las bacterias que degradan petróleo (la mayoría cepas de *Pseudomonas*) que vivían en la arena y en las rocas (Figura 9.18). Las bacterias nativas mostraron inmediatamente signos de que estaban degradando el petróleo. Cuando los microbios degradan productos de petróleo, los PAH se forman y finalmente se oxidan en forma de cadenas de carbono que pueden ser descompuestas en dióxido de carbono y agua. Con el tiempo, las pruebas químicas realizadas sobre el petróleo de los terrenos costeros mostraron grandes cambios en su composición química, indicando que la degradación natural realizada por las bacterias indígenas estaba funcionando (Figura 9.19). Puede llevar cientos de años limpiar totalmente el petróleo, y algunas zonas de Alaska tal vez nunca vuelvan al estado natural que tenían antes de que tuviera lugar el vertido.

Yacimientos petrolíferos de Kuwait

Los desiertos de Kuwait son literalmente un laboratorio viviente para el estudio de la biorremediación. Diez años después de la Guerra del Golfo, vastas áreas del desierto de Kuwait siguen llenas de petróleo. Durante la ocupación iraquí de Kuwait desde el año 1990 hasta el 1991, incontables yacimientos petrolíferos fueron destruidos y quemados, liberando unos 250 millones de litros de petróleo en los desiertos, más de 20 veces la cantidad de petróleo vertido en el accidente del Exxon *Valdez*. Los


(a)


(b)

Figura 9.17 Los vertidos de petróleo representan una amenaza grave para el medio ambiente (a) Los vertidos de petróleo normalmente tienen un fuerte impacto en la fauna. (b) Las bombas de contención se utilizan en principio para controlar la expansión del petróleo y minimizar la contaminación de la zona que lo rodea.



Figura 9.18 Utilización de fertilizantes para estimular a los microbios que degradan petróleo Los trabajadores en las zonas de limpieza rocían fertilizantes ricos en nitrógenos sobre una playa empapada de petróleo en Alaska después del vertido del Exxon *Valdez*. Los fertilizantes aceleran mucho el crecimiento de las bacterias naturales que degradarán el petróleo.

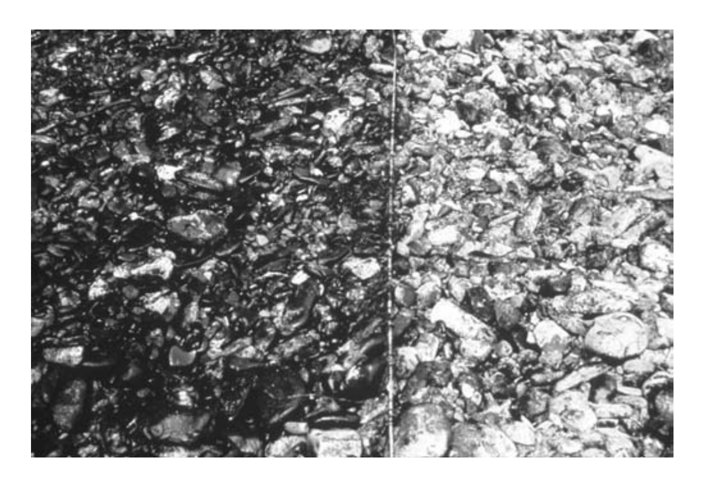


Figura 9.19 La biorremediación funciona Los efectos de la biorremediación sobre el vertido de petróleo en una playa de Alaska son claramente evidentes en esta foto. La porción de la playa que aparece a la derecha fue tratada con fertilizantes para estimular las actividades de biodegradación de los microbios nativos; la sección de la playa que se muestra a la izquierda está sin tratar.

científicos de Kuwait que estudian estos vertidos han observado que el petróleo derramado ha afectado gravemente a la vida de las plantas y de los animales en muchas zonas contaminadas. Algunas especies de plantas han sido completamente eliminadas, y el impacto biológico a largo plazo no se conocerá hasta dentro de muchos años más.

En contraste con el vertido del *Valdez*, la biorremediación de los suelos de los desiertos representa diferentes problemas. A diferencia del vertido de Alaska, no hay olas que dispersen y disuelven el petróleo. El hecho de que el terreno del desierto sea seco tiende a restringir las cepas de microbios que metabolizan el petróleo, y la adhesión del petróleo a la arena y las rocas frena los procesos de degradación natural. Los estudios preliminares sugieren que las cepas nuevas de bacterias que degradan el petróleo están descomponiendo lentamente el petróleo por debajo de la superficie de la arena.

El gobierno de Kuwait ha desarrollado un programa de 730.000 millones de euros para abordar lo que es probablemente el proyecto de biorremediación más grande del mundo. No existen zonas de estudio previas de este tamaño para utilizar como modelo de limpieza de entornos desérticos, por lo que los científicos de todo el mundo están estudiando en los desiertos de Kuwait con la esperanza de desarrollar nuevas estrategias de limpieza de estas arenas empapadas de combustible. La información que los científicos aprendan del estudio de esta región será sin duda valiosa para el tratamiento de vertidos de petróleo en otros lugares arenosos. La próxima sección analiza cómo las aplicaciones potenciales de la biorremediación podrían solucionar los problemas de limpieza que han sido difíciles de tratar.

9.6 Futuras estrategias y retos para la biorremediación

La biotecnología es una herramienta importante en nuestra lucha para rehabilitar zonas que han sido contaminadas por accidentes, la fabricación industrial y la mala gestión de los ecosistemas. La biorremediación es una ciencia que

PyR

P ¿Se recuperará alguna vez el entorno y la fauna de Prince William Sound de los efectos del vertido del Exxon *Valdez*?

R Cientos de científicos también se hacen esta pregunta. Mientras que los científicos de biorremediación estudian la composición del suelo de zonas contaminadas, los biólogos de la fauna y la pesca están llevando a cabo muchos estudios en pájaros marinos, mamíferos y peces. Los científicos están observando la capacidad reproductora y los hábitos de reproducción de varias especies, la migración de peces y pájaros, el análisis de los tejidos grasos de focas refugiadas para identificar los contaminantes derivados del petróleo, y los efectos genéticos de los vertidos en muchas especies. Diez años después del vertido del Exxon *Valdez*, hay signos que indican que los esfuerzos de limpieza han restaurado algunas zonas costeras hasta ser como eran antes de que ocurriese el vertido; pero está claro que muchos peces y especies de la fauna no se han recuperado, y los últimos efectos sobre la fauna aún se desconocen. Aún así, más de 150 millones de euros y los esfuerzos de miles de trabajadores se han dirigido hacia Prince William Sound; la biorremediación y el tiempo son todavía factores muy importantes que influirán en la limpieza del medio ambiente a largo plazo.

se está expandiendo rápidamente. Científicos del mundo entero están llevando a cabo investigaciones con el objetivo de analizar y comprender los microorganismos implicados en los procedimientos de biodegradación. Los investigadores están estudiando genética microbiana para crear microbios por ingeniería genética que sean capaces de degradar nuevos tipos de sustancias químicas, y están desarrollando biosensores nuevos para detectar y controlar la contaminación.

Recuperación de metales valiosos

La recuperación de materiales valiosos como el cobre, el níquel, el boro y el oro es otra área de la biorremediación que aún tiene que madurar. Por medio de las reacciones de oxidación, muchos microbios pueden convertir los productos de metal en sustancias insolubles llamadas óxidos de metal o minerales, que se acumularán en las células bacterianas o se pegarán en la superficie de las mismas. Algunas bacterias marinas que viven en conductos de respiración hidrotermales en las profundidades del mar han mostrado también su potencial para precipitar metales preciosos. Utilizar bacterias como forma de recuperar metales peligrosos como parte de los procesos de fabricación industrial es una aplicación potencial, pero los científicos están interesados en utilizar estas bacterias para recuperar valiosos metales preciosos. Por ejemplo, muchos procedimientos de fabricación utilizan las técnicas de plateado y dorado que crean soluciones de desperdicios con partículas suspendidas de plata y oro. Los microbios se pueden utilizar para recuperar de los desperdicios algunos de estos metales. Del mismo modo, los microbios se pueden utilizar también para recolectar partículas de oro de las reservas de agua subterráneas y de las cuevas que se hallan en las minas de oro. Actualmente se están estudiando muchas cepas bacterianas que viven en esos lugares para estos propósitos. Las plantas también se pueden utilizar para recuperar metales del medio ambiente. La mostaza salvaje *Thlaspi goesingense,* nativa de los Alpes austríacos, es famosa por acumular metales en sus vacuolas.



TÚ DECIDES

El dilema del PCB del río Hudson

Rodeando la parte norte del Estado de Nueva York, el valle del río Hudson es una de las zonas más bonitas del noreste, pero graves problemas se ciernen sobre la superficie de sus azules aguas. Desde 1947 hasta 1977, la General Electric Company liberó más de 540.000 kg de sustancias químicas tóxicas llamadas bifenilos policlorados dentro del río que provenían de las industrias de las cataratas Hudson y de Fort Edward en Nueva York. Los PCB se utilizaron con normalidad en las cajas de transformación, capacitores y fluidos refrigeradores y aislantes de equipos eléctricos creados antes de 1977, sin embargo, ya no se fabrican en Estados Unidos, y su producción se ha prohibido en casi todo el mundo.

Los PCB son muy tóxicos para los humanos y para la fauna porque son solubles en grasa y se acumulan de forma gradual en los tejidos adiposos. Los peces del río Hudson están contaminados con PCB en concentraciones que superan los niveles de seguridad. El consumo de peces de la mayoría de las zonas del río Hudson está prohibido o restringido, pero muchas personas ignoran estas restricciones porque el agua parece muy limpia y el pescado no parece contaminado. Los PCB representan graves amenazas para la salud de los humanos, y se sabe que la exposición prolongada a los PCB causa cáncer, problemas en la reproducción y otros problemas de salud que afectan al sistema inmune y a la glándula tiroides. Los niños son particularmente susceptibles a los efectos de los PCB.

Todavía existen grandes concentraciones de estas sustancias químicas en el río Hudson y en otros entornos. En el río Hudson, la mayoría de los PCB están en los sedimentos del fondo del río. Para eliminar del río estas sustancias químicas persistentes, grupos medioambientales y la EPA han planteado un programa de 5 a 6 años para realizar obras de dragado y eliminación de más de 900.000 m^3 de sedimentos de diferentes segmentos del río de 28.000 km de extensión, lo que eliminaría más de 45.000 kg de PCB. Los críticos de los planes de obras de dragado sugieren que las operaciones de dragado liberarán más PCB en el agua al remover los sedimentos. A pesar del dragado, muchos creen que dejar los sedimentos donde están y dejar que las corrientes naturales dispersen las sustancias químicas, combinado con la biorremediación a través de la degradación bacteriana de los PCB, es la mejor forma de reducir a la larga la cantidad de PCB.

Se han detectado anaerobios que degradan el PCB en los sedimentos del río Husdon. Algunas bacterias anaeróbicas están implicadas en el primer paso de la descomposición de los PCB por la partición de grupos de cloro e hidrógeno. Las bacterias aeróbicas del agua pueden modificar más los PCB, y otros pueden entonces transformarlos en agua, dióxido de carbono y cloro. Algunas predicciones sugieren que incluso después de las obras de dragado, los niveles de PCB en los pescados no bajarán a los niveles aceptables para su consumo humano hasta después de 2070. Incluso si las obras de dragado son una buena opción, ¿a dónde irán los sedimentos de estas obras? ¿Cómo se limpiarán estas sustancias químicas? Algunas personas creen que almacenar los sedimentos llenos de PCB en un vertedero cerrado, un entorno completamente anaeróbico, retrasará su degradación. ¿Deberían dejar estas sustancias químicas en el lodo para que sean descompuestas lentamente con el tiempo por medio de la biorremediación natural, o debería intervenir el hombre para reforzar estos métodos de limpieza naturales? ¿Cuáles son los pros y los contras de tomar medidas o de actuar? Tú decides.

La biorremediación de los residuos radiactivos

Otra área de investigación de la biorremediación la constituye la eliminación de los materiales radiactivos del medio ambiente. El uranio, el plutonio y otros componentes radiactivos se encuentran en el agua de las minas donde se procesa el uranio que surge de forma natural. Los residuos radiactivos de las plantas de energía nuclear representan también un problema en todo el mundo. El Departamento de Energía de Estados Unidos (DOE) ha identificado más de 100 lugares en 30 Estados contaminados por la producción de armas y el desarrollo de reactores nucleares. Las áreas de residuos radiactivos tienen una mezcla compleja de elementos radiactivos como el plutonio, el cesio, y el uranio junto con mezclas de metales pesados y contaminantes orgánicos como el tolueno. Aunque la mayoría de los materiales radiactivos matan a la mayoría de los microbios, algunas cepas de bacterias han demostrado tener potencial para degradar productos químicos radiactivos. Por ejemplo, los investigadores de la Universidad de Massachusetts han descubierto que algunas especies de *Geobacter* pueden reducir eficazmente el uranio soluble de las aguas subterráneas en uranio insoluble, al inmovilizar la radiactividad. Sin embargo, hasta la fecha, no se han descubierto bacterias nuevas que puedan metabolizar completamente los elementos radiactivos en productos inocuos.

La cepa denominada *Deinococcus radiodurans* es particularmente fascinante. Su nombre significa literalmente «baya extraña que resiste la radiación». Considerada por el *Libro Guinness de los Records* la bacteria más resistente del mundo, la *D. radiodurans* fue identificada y aislada por primera vez hace 50 años de una lata de carne picada que se había estropeado aunque la habían esterilizado con radiación. Posteriormente, los científicos descubrieron que *D. radiodurans* puede aguantar dosis de radiación 3.000 veces más altas que otros organismos, incluido el hombre. Altas dosis de radiación crean roturas en la estructura del DNA y causan mutaciones, pero *D. radiodurans* muestra una resistencia increíble a los efectos de la radiación. Aunque no se conocen totalmente sus mecanismos de resistencia, este microbio posee sistemas elaborados para plegar su genoma para minimizar los daños de la radiación, y también utiliza mecanismos nuevos de reparación del DNA para reemplazar las copias dañadas de su genoma. Se cree que las conclusiones recientes sobre el mapa del genoma *D. radiodurans* proporcionarán una perspectiva valida de sus exclusivos genes de reparación del DNA.

El DOE está muy interesado en utilizar *D. radiodurans* y otra bacteria, *Desulfovibrio desulfuricans,* para la biorremediación de lugares radiactivos. Recientemente, las investigaciones del DOE y la Universidad de Minnesota crearon una cepa recombinante de este microbio al unir una secuencia del gen promotor de *D. radiodurans* con un gen (tolueno dioxigenasa) implicado en el metabolismo del tolueno. Esta cepa demostró la capacidad de degradar tolueno en un entorno con mucha radiación. En un intento por inmovilizar los elementos radiactivos, los científicos esperan utilizar esta misma estrategia para equipar al *D. radiodurans* con genes de otros microbios conocidos por codificar proteínas de unión a metales.

Por último, es crucial que aprendamos de la experiencia. Antes de establecer un almacén de residuos, los científicos deben realizar valoraciones iniciales del lugar para estudiar los organismos y ecosistemas que estén presentes y para valorar los efectos potenciales de la conta-



PERFIL PROFESIONAL

Técnico de convalidación

La biorremediación es una disciplina relativamente nueva de la biotecnología, y muchas compañías pequeñas están implicadas en varios aspectos de este campo. La biorremediación es una industria multidisciplinar que necesita el trabajo en equipo de muchos tipos distintos de científicos, incluyendo microbiólogos, químicos, científicos del terreno, científicos medioambientales, hidrólogos e ingenieros. Los microbiólogos y los biólogos moleculares trabajan mano a mano para realizar investigaciones para comprender los mecanismos que los microorganismos utilizan para degradar contaminantes. Los biólogos trabajan junto con los ingenieros para diseñar y poner en práctica las mejores instalaciones para los tratamientos de limpieza de contaminantes.

Un puesto de trabajo inicial en el campo de la biorremediación es el de técnico de convalidación. Algunos técnicos de convalidación corroboran los informes archivados de la EPA. El conocimiento de la normativa de la EPA aplicable, la capacidad de recoger datos sobre contaminación de los campos sensores (muchos de los cuales están unidos por satélites a monitores), y la capacidad de ordenar estos datos en una base de datos accesible son necesarios para este puesto de trabajo.

Es necesario tener buenos conocimientos informáticos, estar familiarizado con los programas de bases de datos y los sistemas de información geográfica de satélites. También hay que tener amplios conocimientos de organismos y comunidades naturales. Desde este puesto inicial, los técnicos de convalidación con otros estudios universitarios (o licenciaturas similares) pueden avanzar a puestos de supervisión. Los ingenieros genéticos que diseñan los mecanismos de biorremediación son normalmente científicos de investigación con un doctorado, pero dependen de los datos recogidos en los estudios de campo realizados por los técnicos de convalidación.

minación. Las industrias producen cientos de sustancias químicas distintas cada año. Además, es importante que los científicos de la biodegradación miren continuamente hacia delante para que así puedan estar preparados para predecir cómo las nuevas sustancias químicas podrían afectar al entorno y desarrollar tecnologías para limpiar contaminantes nuevos. La biorremediación no podrá eliminar todos los contaminantes del entorno, pero las estrategias bien planeadas de biorremediación son un componente importante del control medioambiental y de los esfuerzos de limpieza.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Consulta las respuestas en el Apéndice 1.

1. Describe tres ejemplos específicos de la aplicación de la biorremediación. Incluye en tu descripción los organismos que pueden estar implicados en el procedimiento, y habla sobre las ventajas y desventajas potenciales de cada aplicación.
2. ¿Cuál es el propósito de añadir fertilizantes y oxígeno a un lugar contaminado que está experimentando la biorremediación?
3. Supón que sabes que una parcela, que se utilizó anteriormente como vertedero químico, ha sido limpiada por medio de biorremediación y que ahora quieren que sea una urbanización. ¿Querrías vivir en una casa que fuese construida sobre un antiguo lugar donde se aplicó la biorremediación? Ten en cuenta los problemas potenciales asociados con este escenario.
4. El plomo es un metal muy tóxico que no se degrada fácilmente en el entorno. Las tuberías de plomo, las pinturas que contienen plomo, las baterías de los coches, e incluso el plomo que se utiliza en la pesca son fuentes potenciales para la liberación del plomo al medio ambiente. Propón una estrategia para identificar las bacterias que pueden ayudar a degradar el plomo.
5. Supón que tu ciudad quiere construir en tu barrio una instalación de almacenamiento de residuos químicos. Ten en cuenta las «lecciones aprendidas» de los fracasos anteriores de almacenamiento de residuos, basureros, contaminación medioambiental y aplicaciones satisfactorias de la biorremediación, y después haz una lista de las prioridades que los concejales de la ciudad deben tener en cuenta antes de construir el almacén y las preguntas que deberían plantearse.
6. Accede a alguna de las páginas web enumeradas en la página web adjunta. Utiliza estas páginas para buscar información sobre los contaminantes que más predominan en el entorno. Haz una lista con los cinco contaminantes y describe dónde se hallan, cómo entran en el medio ambiente, sus efectos sobre la salud (de los humanos y de otros organismos) tanto a largo como a corto plazo, y qué tipos de microbios pueden degradar estos contaminantes.
7. Visita la página web Scorecard citada en la página web adjunta. Scorecard te da informes de los datos de la contaminación de cada estado de Estados Unidos. Escribe tu código postal y verifica los últimos informes de las áreas cercanas a tu hogar.
8. Visita la página del Superfund EPA y busca información sobre violaciones de limpieza medioambiental denunciadas en tu Estado. ¿Quién fue el responsable de estas violaciones? ¿Qué multas (si hubo alguna) fueron impuestas? ¿Qué esfuerzos se han planeado para remediar el lugar(es)?
9. En noviembre de 2002, el petrolero *Prestige* derramó la mitad de su vertido y se hundió en el noroeste de España. Se derramaron al menos 30.000 toneladas de crudo. Realiza una búsqueda en la web para ver si puedes encontrar alguna información sobre biorremediación en este lugar.
10. La biorremediación es un área de la biotecnología que cambia con rapidez. Visita Google Scholar (http://scholar.google.com/) y haz una búsqueda utilizando «biorremediación» (o busca un tema específico de biorremediación, como por ejemplo «fitorremediación») para encontrar publicaciones recientes sobre biorremediación.

Bibliografía y lecturas complementarias

Meagher, R.B. (2006). Contaminación de explosivos que afrontan las plantas. *Nature Biotechnology,* 24:161-163.

Parales, R.E., Bruce, N.C., Schmid, A., et al. (2002). Biodegradación, biotransformación, y biocatalisis (B3). *Applied and Environmental Microbiology,* 68:4699-4709.

Peterson, C. H., Rice, S. D., Short, J. W., et al. (2003). Respuestas del ecosistema a largo plazo en el vertido de petróleo de Exxon *Valdez. Ciencias,* 302: 2082-2086.

Seshadri, R., Adrian, L., Fouts, D.E., et al. (2005).Secuencia del genoma de la Bacteria decolotante PCE *Dehalococcoides ethenogenes. Ciencias,* 307: 105-108.

Wall, J. D., y Krumholz, L. R. (2006). Reducción de uranio. *Annual Review of Microbiology,* 60: 149-166.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo **10**

Biotecnología acuática

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Explicar los objetivos e importantes beneficios de la acuicultura, así como reconocer y apreciar el impacto mundial de la piscicultura.
- Explicar las controversias que rodean a la acuicultura y describir sus limitaciones.
- Describir ejemplos de prácticas comunes en la piscicultura.
- Comprender el modo en que la identificación de novedosos genes de especies acuáticas puede resultar beneficiosa para el sector de la biotecnología.
- Ofrecer ejemplos de peces transgénicos y sus usos.
- Explicar cómo se crean las especies triploides.
- Ofrecer ejemplos de aplicaciones médicas de la biotecnología acuática.
- Describir los productos de la biotecnología acuática ajenos a la medicina y sus aplicaciones.
- Definir las biopelículas y explicar el modo en que los científicos observan los organismos marinos como una forma natural de minimizar la creación de biopelículas.
- Describir el uso de los organismos marinos para la biodetección y eliminación de contaminantes medioambientales.



Los cangrejos de herradura *(Limulus polyphemus)* son una fuente de células sanguíneas para un importante análisis que permite garantizar que los alimentos y los productos médicos carecen de contaminantes dañinos.

Puesto que el agua cubre casi el 75 por ciento de la superficie terrestre, no nos sorprende que los medios acuáticos sean ricas fuentes de aplicaciones biotecnológicas y de soluciones potenciales a una gran variedad de problemas. Los organismos acuáticos se dan en una gran variedad de condiciones extremas, como en gélidos mares polares, presiones extraordinariamente elevadas a grandes profundidades, alta salinidad, temperaturas excesivamente elevadas y condiciones de luz escasa. Como resultado, los organismos acuáticos han desarrollado una increíble cantidad de rutas metabólicas, mecanismos reproductores y adaptaciones sensoriales. Albergan una gran riqueza de información genética única y potenciales aplicaciones. En este capítulo, consideraremos muchos aspectos fascinantes de la **biotecnología acuática** explorando el modo en que pueden utilizarse tanto los organismos marinos como los de agua dulce en aplicaciones biotecnológicas.

10.1 Introducción a la biotecnología acuática

Los océanos han sido una fuente de alimento y recursos naturales durante milenios. Sin embargo, el crecimiento de la población humana, la pesca excesiva de peces y otras especies marinas y el declive de las condiciones medioambientales han colapsado algunas industrias pesqueras, lo que supone una carga para muchas especies y presión en los recursos oceánicos. Aunque los científicos han aprendido mucho sobre la biología oceánica, aún tienen que identificarse la gran mayoría de los organismos marinos (especialmente los microorganismos). Se estima que más del 80 por ciento de los organismos de la tierra viven en ecosistemas acuáticos.

La necesidad obvia de utilizar la riqueza potencial de la mayor parte de la superficie terrestre en combinación con las poblaciones crecientes, las necesidades médicas de los humanos y las preocupaciones por el medio ambiente en nuestro planeta convierte a la ciencia acuática en una frontera emergente para la investigación biotecnológica. Los ecosistemas acuáticos pueden contener las respuestas a varios problemas globales. En Estados Unidos se gastan unos 36 millones de euros al año en la investigación y el desarrollo de la biotecnología acuática. En cambio, Japón gasta entre 650 millones y 730 millones de euros al año. La exitosa investigación de los países asiáticos que han invertido en investigación científica básica para la biotecnología acuática, así como el éxito financiero de sus productos, han fomentado que otros países inviertan también una significativa cantidad de tiempo y recursos. Cuando a una compañía se le concede una patente para una aplicación de biotecnología acuática, se estima que el valor de mercado de las acciones aumenta una media de 585.000 euros aproximadamente.

En Estados Unidos, la National Science Foundation y el National Sea Grant Program, que dirige programas costeros que involucran a universidades, científicos, educadores y estudiantes para que apoyen la investigación marina, han desarrollado muchas iniciativas que respaldan la biotecnología acuática. En especial, se han identificado varias prioridades de investigación para explorar las aparentemente infinitas posibilidades de la utilización de organismos acuáticos. Éstas incluyen las siguientes:

- Incremento de las reservas de alimento del mundo.
- Identificación de compuestos novedosos para el beneficio de la salud y tratamientos médicos en humanos.
- Mejora de la seguridad y calidad del marisco.
- Descubrimiento y desarrollo de nuevos productos con aplicaciones en la industria química.
- Búsqueda de nuevos métodos para controlar y tratar las enfermedades.
- Conocimiento creciente de los procesos biológicos y geoquímicos de los océanos del planeta.

Desde la piscicultura al aislamiento de nuevos productos médicos a partir de organismos marinos, estos aspectos de biotecnología acuática se encuentran en el rango de temas que consideraremos en este capítulo. En el siguiente apartado se explica la acuicultura, una importante aplicación agrícola en expansión de la biotecnología acuática.

10.2 Acuicultura: incremento de las reservas de alimento del planeta mediante la biotecnología

Dos pescadores se esfuerzan por levantar una red rebosante de siluros que tienen el tamaño ideal y son perfectamente saludables para el consumo humano. Cada pez de la red es de los que uno no deja escapar. Cuando se preparan para venderse en los mercados, estos siluros poseen una consistencia, olor, color y sabor muy apetitosos. Esta situación no se produce en un puerto pesquero ni en un barco de pesca comercial, sino que describe a los piscicultores que limpian las redes de un estanque de cultivo de peces (Figura 10.1). El cultivo de animales acuáticos, tanto peces como marisco, y de plantas acuáticas por motivos comerciales o de recreo se conoce como **acuicultura.** En especial, la acuicultura marina se denomina **maricultura.** Aunque la acuicultura puede considerarse un tipo de biotecnología agrícola, es una forma de biotecnología acuática. En este apartado, explicaremos principalmente la piscicultura de especies marinas y de agua dulce de peces y marisco.

La economía de la acuicultura

Se espera que la demanda mundial de productos de acuicultura crezca un 70 por ciento en los próximos 30 años.



Figura 10.1 Una red llena de siluros criados gracias a la piscicultura para su venta en los mercados La acuicultura es un modo eficaz de criar grandes cantidades de peces o marisco listos para su consumo en los mercados en un período de tiempo relativamente corto. La acuicultura también permite que los científicos y piscicultores cultiven salmón mediante una cría selectiva para que se ajuste a las características deseables del mercado según las preferencias de los consumidores. Los siluros 103 que aparecen aquí tienen tamaño de mercado según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, y se cultivan significativamente más rápido que otros siluros.

De hecho, se ha estimado que, en un futuro cercano, la demanda mundial de marisco de todo tipo superará lo que pueden proporcionar las reservas naturales entre unos 50 millones y 80 millones de toneladas aproximadamente. El exceso de extracciones, la pérdida de hábitats y el declive de los sectores pesqueros comerciales están contribuyendo al descenso de la producción de reservas naturales de marisco. Si la demanda continúa aumentando y la pesca natural sigue disminuyendo, llegaremos a un déficit de pescado y marisco de consumo. La acuicultura, junto con unas mejores prácticas de gestión, solucionarán en parte este problema.

Según la Food and Agriculture Organization (FAO) de las Naciones Unidas, en 1950 se estimó una producción de la acuicultura de 1 millón de toneladas métricas. La producción mundial de la acuicultura en el año 2000 fue de 33 millones de toneladas métricas aproximadamente, más del doble desde 1984. Recientes estimaciones sugieren que cerca del 30 por ciento de todo el pescado que consumimos los humanos en todo el mundo se producen mediante acuicultura. Se espera que para el 2010 el pescado de piscifactoría superará a los productos vacunos como alimento. El mercado del pescado capturado mediante los métodos de pesca comercial convencionales es de 92 millones de toneladas métricas aproximadamente. El total de los sectores pesqueros de todo el mundo, la acuicultura junto con la pesca de captura, supera los 125 millones de toneladas métricas. Algunas fuentes estiman que la acuicultura ya ha superado a las fincas ganaderas como fuentes de alimento. China es el mayor productor de pescado, ya que representa aproximadamente un tercio del total mundial.

La acuicultura en Estados Unidos es un gran negocio; es una industria de más de 36.000 millones de dólares que proporciona más del 20 por ciento de las reservas de marisco del mundo. La producción de la acuicultura en Estados Unidos casi se ha doblado en la última década y produce más de 100 especies distintas de plantas y animales acuáticos. Se espera que este aumento continúe; además, se están produciendo incrementos similares en la acuicultura a escala global. Por ejemplo, más de la mitad del salmón que se vende en todo el mundo se produce mediante la acuicultura, con un incremento de casi 50 veces en la producción de salmón de piscicultura en las últimas dos décadas. La acuicultura en Estados Unidos se convirtió en uno de los principales sectores de la década de 1950 cuando la piscicultura de los siluros se estableció en el sureste, mientras que ahora existen instalaciones de acuicultura en todos los estados. Algunos de los ejemplos más relevantes del potencial de la acuicultura en los negocios de Estados Unidos incluyen la industria de siluros de Alabama y del delta del Mississippi, la cría de salmones en Maine y Washington, la cría de truchas en Idaho y Virginia occidental y la cría de cangrejos de río en Luisiana. Del mismo modo, Florida, Massachusetts y otros estados cuentan con importantes criaderos de marisco que han beneficiado a los luchadores pescadores comerciales. Por ejemplo, Cape Cod, que alberga aproximadamente el 75 por ciento del sector de acuicultura de Massachusetts, ha logrado criar con éxito diversas especies de marisco, como almejas, almejas americanas, mejillones y ostras.

Muchos otros países se han involucrado de forma activa en prácticas de acuicultura. Chile es el segundo mayor exportador del mundo y genera aproximadamente 730 millones de euros en ingresos cada año. Ecuador, Colombia y Perú tienen industrias en rápido crecimiento. Los criaderos griegos son los mayores productores mundiales de lubina, con una producción de 100.000 toneladas anuales, que suponen más del 90 por ciento de la producción de acuicultura de Europa. Noruega es el mayor productor de salmón. Canadá produce más de 70.000 toneladas de salmón del Atlántico y del Pacífico, con una cosecha anual de aproximadamente 330 millones de euros. La zona con una mayor producción de Canadá es la Columbia Británica, con más de 100 criaderos de salmón. Durante la pró-

xima década, se prevé que la cantidad de criaderos canadienses aumente de 120 a más de 600, creando así 20.000 nuevos puestos de trabajo y contribuyendo en más de 660 millones de euros a la economía. El rápido crecimiento y el éxito del sector de la acuicultura en Chile ha hecho que muchos países se pregunten: «Si Chile puede hacerlo, ¿por qué nosotros no?». Como resultado, existen mercados en expansión en Argelia, Argentina, Escocia, Islandia, Islas Feroe, Irlanda, Rusia, Indonesia, Nueva Zelanda, Tailandia, Filipinas, India y muchas otras naciones.

Muchos de los países más implicados en el desarrollo del sector de la acuicultura lo hacen debido a que las aguas locales han sido sometidas a una pesca indiscriminada hasta el punto de que las reservas naturales de peces y marisco se han visto gravemente reducidas. Gracias a la acuicultura, pueden crearse mercados en zonas en las que se han perdido los recursos naturales. La acuicultura también ofrece la ventaja de crear zonas de comercio de marisco en áreas del mundo en las que, debido a su localización geográfica, no se suelen dar estos productos. Por ejemplo, se ha desarrollado el sector de la piscicultura en los desiertos de Arizona, donde el agua reciclada de la acuicultura se emplea para regar campos de cultivo; los peces se crían en diques de irrigación. En las zonas áridas de Australia, se están realizando esfuerzos similares.

En teoría, un aumento de la productividad de la cría de pescado debería provocar una reducción de los precios de venta a los consumidores. Algunos aspectos de la cría de pescado son económicamente más rentables que la cría de animales o la pesca comercial. Por ejemplo, hacen falta unos 3 kg de grano para obtener 0,5 kg de carne de vacuno, y sólo hace falta 1 kg de comida para peces para obtener alrededor de 0,5 kg en la mayoría de los tipos de peces. Otro ejemplo es que los siluros de criaderos crecen casi un 20 por ciento más rápido en las piscifactorías que los siluros en libertad, y están listos para su venta en aproximadamente dos años. En el caso de especies de peces alimentadas con nutrientes modifica-

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

A la caza de los genes de los peces

Las técnicas de biología molecular que permiten a los científicos identificar genes nos permiten avanzar en el conocimiento de la salud y las enfermedades del ser humano; el Proyecto del Genoma Humano es un ejemplo de ello. Se están llevando a cabo estudios similares para obtener información sobre los genomas de diferentes especies de peces comercialmente valiosos que suponen fuentes de alimentación deseables. Desde el atún hasta el salmón, pasando por una amplia variedad de mariscos, los científicos intentan identificar genes que contribuyan a propiedades como la tasa de crecimiento, el sabor, el color y la resistencia frente a las enfermedades. Las técnicas de reproducción selectiva se han extendido para obtener peces con las características deseadas. Sin embargo, hoy en día, las técnicas de biología molecular se emplean como «herramientas» para identificar determinados genes que puedan emplear los científicos para obtener peces y marisco transgénicos con propiedades mejoradas que harán que determinadas especies resulten más atractivas para los amantes de estos productos. ¿Cómo «pescan» los científicos estos genes? En algunos casos, se están realizando estudios sobre toda la secuencia del genoma, pero un método habitual es el de emplear una técnica denominada **PCR de visualización diferencial.**

Esta técnica se basa en la comparación del DNA o el RNA de dos muestras de tejidos u organismos diferentes mediante cebadores que se combinan de forma aleatoria con las secuencias de un genoma. De este modo, los científicos pueden identificar categorías de genes que se expresan de forma «diferencial», es decir, genes producidos en un tejido (u organismo) y no en otro. Por ejemplo, supongamos que los científicos tratan de identificar genes que podrían contribuir a un rápido ritmo de crecimiento de los camarones. Podemos suponer que los camarones más grandes tendrán genes diferentes o un mayor nivel de aparición de uno o más genes relacionados con el ritmo de crecimiento. Para descubrir esos genes, habría que aislar el mRNA de un camarón pequeño y el de un camarón grande, realizar una transcripción inversa del RNA para crear el DNA complementario y, a continuación, ampliar esas muestras a través de una PCR de visualización diferencial. Los productos de la PCR se separan mediante electroforesis en gel. Si el camarón grande ha mostrado un mRNA de genes exclusivos relacionados con el crecimiento rápido, entonces los productos de la PCR de dichos genes se detectarían en muestras de camarones grandes, pero no en muestras de camarones pequeños. A continuación, los científicos pueden determinar la secuencia de DNA de dichos productos de PCR para averiguar qué genes han identificado. Algunos de estos genes podrán emplearse para crear animales transgénicos con capacidades de crecimiento mejoradas.

Esta herramienta no sólo la emplean a menudo los biotecnólogos acuícolas, sino también los biólogos moleculares en muchos ámbitos de investigación. Por ejemplo, los investigadores sobre el cáncer emplean esta técnica para identificar genes presentes en células cancerosas que no se encuentran en células normales. Varios grupos de biotecnólogos acuícolas de todo el mundo también emplean técnicas parecidas para identificar y caracterizar los genes que emplean los patógenos virales y bacterianos para causar enfermedades en peces y mariscos. Dichos estudios permiten desarrollar tratamientos para enfermedades que causan importantes pérdidas económicas en el sector de la acuicultura; asimismo, permiten a los científicos gestionar y proteger las reservas de peces y marisco nativas frente a las enfermedades.

dos genéticamente con un coste aproximado de 20 céntimos/kg, los ingresos son de unos 140-160 céntimos/kg al vender el pez adulto; esto supone una buena amortización de la inversión. Sin embargo, en este capítulo podrás comprobar que la economía de la acuicultura no siempre es tan favorable.

Aunque el aumento global de la acuicultura seguramente continuará, no es probable que la piscicultura sustituya por completo a las capturas naturales en un futuro próximo. En primer lugar, muchas especies no se pueden obtener en criaderos. Las especies de mar abierto, como el atún o el pez espada, recorren largas distancias y requieren grandes cantidades de alimentos, por lo que no se pueden criar en piscifactorías. En este capítulo analizaremos otros impedimentos a los que se debe enfrentar el sector de la acuicultura. El objetivo de presentar las estadísticas en esta sección no es proporcionar un método para combatir el insomnio, sino ayudarte a desarrollar una visión general sobre el valor y la importancia actual de la acuicultura y su potencial. Consulta la página web de la Food and Agriculture Organization (FAO) de la Organización de las Naciones Unidas en el sitio web de la web adjunta para obtener un informe completo sobre los sectores pesqueros y de acuicultura de todo el mundo.

Prácticas de piscicultura

En muchos sentidos, la acuicultura es sólo una ampliación de las técnicas agrícolas convencionales que se aplican desde hace décadas. El cultivo de organismos para el consumo humano es sólo uno de los objetivos de la acuicultura. Los organismos se crían por muchas otras razones, como el suministro de cebos para la pesca comercial y de recreo. Los peces pequeños, como anchoas, arenques y sardinas, se crían para obtener piensos de pescado y aceites empleados para la alimentación de aves, ganado, cerdos y otros peces. El cultivo de perlas, el empleo de especies para aislar agentes farmacéuticos, la cría de peces ornamentales, como peces dorados o exóticos, peces tropicales, así como el uso de peces para aumentar las existencias en áreas recreativas son otros de los muchos usos de la acuicultura.

Por ejemplo, en Nueva Jersey, los biólogos de las piscifactorías crían truchas para crear una piscifactoría de truchas de suelta y captura. Cada primavera, el estado suministra más de 700.000 truchas arco iris, truchas comunes y truchas de arroyo a ríos, arroyos, estanques y lagos de todo el territorio. Muchos arroyos y ríos no podrían albergar truchas todo el año, ya que se calientan demasiado en verano o porque la calidad del agua es demasiado baja para las truchas. Sin embargo, a través del suministro («suelta»), los pescadores pueden quedarse con lo que pescan («captura») para uso culinario. Muchos otros estados cuentan con programas de suministro parecidos destinados a ciertas especies de aguas cálidas y aguas frías, incluidas las percas, las lubinas, los siluros, los lucios de los Grandes Lagos y las lubinas estriadas híbridas, creadas a partir del cruce de lubinas blancas de agua dulce y lubinas estriadas de agua salada. Estos programas también ofrecen oportunidades de pesca a personas que habitan zonas urbanas con un acceso relativamente difícil a las piscifactorías rurales.

Tal y como se muestra en la Tabla 10.1, se han obtenido resultados exitosos con diversos peces y organismos marinos. En muchos países, esta lista se ampliará dentro de poco. Por ejemplo, especies marinas como las langostas y los cangrejos se han producido de forma limitada, pero aún no se ha generalizado su venta.

Las técnicas de acuicultura varían en gran medida en función de factores tales como las especies criadas, los ciclos de vida de dichas especies, los requisitos ambientales para su crecimiento y la cantidad de tiempo necesaria para alcanzar la madurez con el objetivo de sacarlas al mercado. En el caso de peces como el salmón o la trucha, los huevos (huevas) y el fluido seminal (esperma) se recogen de forma manual a partir de peces adultos de las reservas de los criaderos. En un intento por controlar la calidad y la salud de los peces obtenidos, los progenitores empleados en las reservas de los criaderos suelen ser peces que presentan el aspecto físico y las características de crecimiento deseados (Figura 10.2). Por ejemplo, la tasa de crecimiento, la salud, la calidad y el color de la carne de los peces son algunas de las características que se tienen en cuenta al seleccionar peces para criaderos.

Tabla 10.1 ORGANISMOS DE ACUICULTURA IMPORTANTES EN ESTADOS UNIDOS

Organismos de agua dulce*	Organismos marinos*
Siluro	Ostras
Cangrejo de río	Almejas (mercenaria y de can)
Trucha	Camarón patiblano
Salmón del Atlántico	Peces planos (rodaballo, platija)
Salmón del Pacífico	Lubina
Cebos (piscardos, carpitas doradas, salmonetes, sardinas)	Mejillones
Tilapia	Oreja de mar
Lubina estriada híbrida	Almejas americanas
Esturión	
Carpa (plateada, china)	
Jurel	
Palometa	
Carpa dorada	

*Las especies se listan según la producción total aproximada en toneladas métricas de mayor a menor cantidad. La producción de organismos de agua dulce supera a la de los organismos de agua salada; sin embargo, las especies que ocupan la misma fila no indican una producción equivalente.

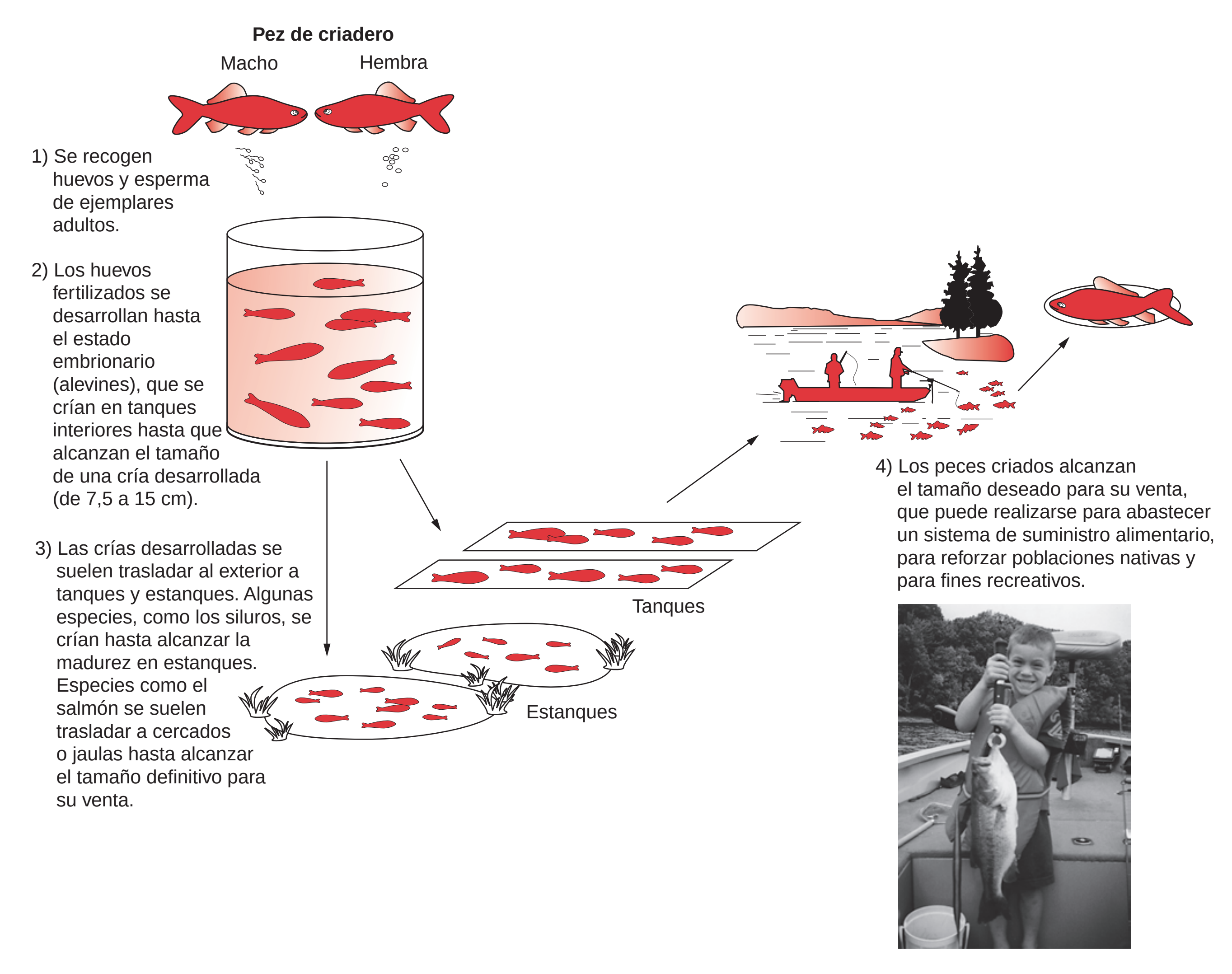


Figura 10.2 **Descripción general de la piscicultura**

Los huevos se fertilizan en pequeños tanques o contenedores y, tras determinado período de tiempo, los embriones eclosionados, denominados *alevines*, se trasladan a tanques más grandes con agua corriente. La mayor parte de esta fase suele realizarse en recintos interiores, en una «guardería». Los peces suelen abandonar el acuario guardería cuando alcanzan el tamaño de una cría desarrollada (varias pulgadas, más o menos la longitud de un dedo humano). Las crías desarrolladas, a veces denominadas *smolts esquines*, se suelen trasladar a tanques de hormigón que pueden ser interiores o exteriores (Figuras 10.2 y 10.3). Los tanques están diseñados en forma de recintos interconectados que permiten un flujo continuo de agua entre ellos. Esto es especialmente importante en el caso de especies como el salmón o la trucha, que están acostumbradas a nadar contracorriente en arroyos y ríos. Al recrear las condiciones ambientales, los acuicultores tratan de hacer que estas especies desarrollen características físicas similares a las de los peces salvajes, como el desarrollo de la musculatura y el instinto de supervivencia.

Algunas especies de peces se crían en tanques hasta que alcanzan el tamaño de venta o se trasladan a estanques más pequeños de poca profundidad para que crezcan más, antes de recogerlos. Tras alcanzar un tamaño medio, algunas especies, como el salmón, pueden alcanzar la madurez en recintos, jaulas u otros habitáculos colocados en lagos, estanques o estuarios. A menudo, los piscicultores emplean sistemas de soportes o jaulas que contienen grandes cantidades de pequeños mariscos criados en el acuario guardería y que aún no han madurado, como ostras o almejas, que se adhieren a los soportes. A continuación, los soportes se colocan en entornos tipo estuario para permitir que los mariscos alcancen la madurez en un entorno marino natural. Los expertos han comprobado que los campos de ostras, que podrían producir unos 10 kg de ostras por hectárea, pueden producir casi 58.000 kg de ostras por hectárea en soportes colgantes. También se han logrado mayores rendimientos con otras especies, como los mejillones. La mayoría de los acuicultores modifica, de forma constante las técnicas de producción para aumen-

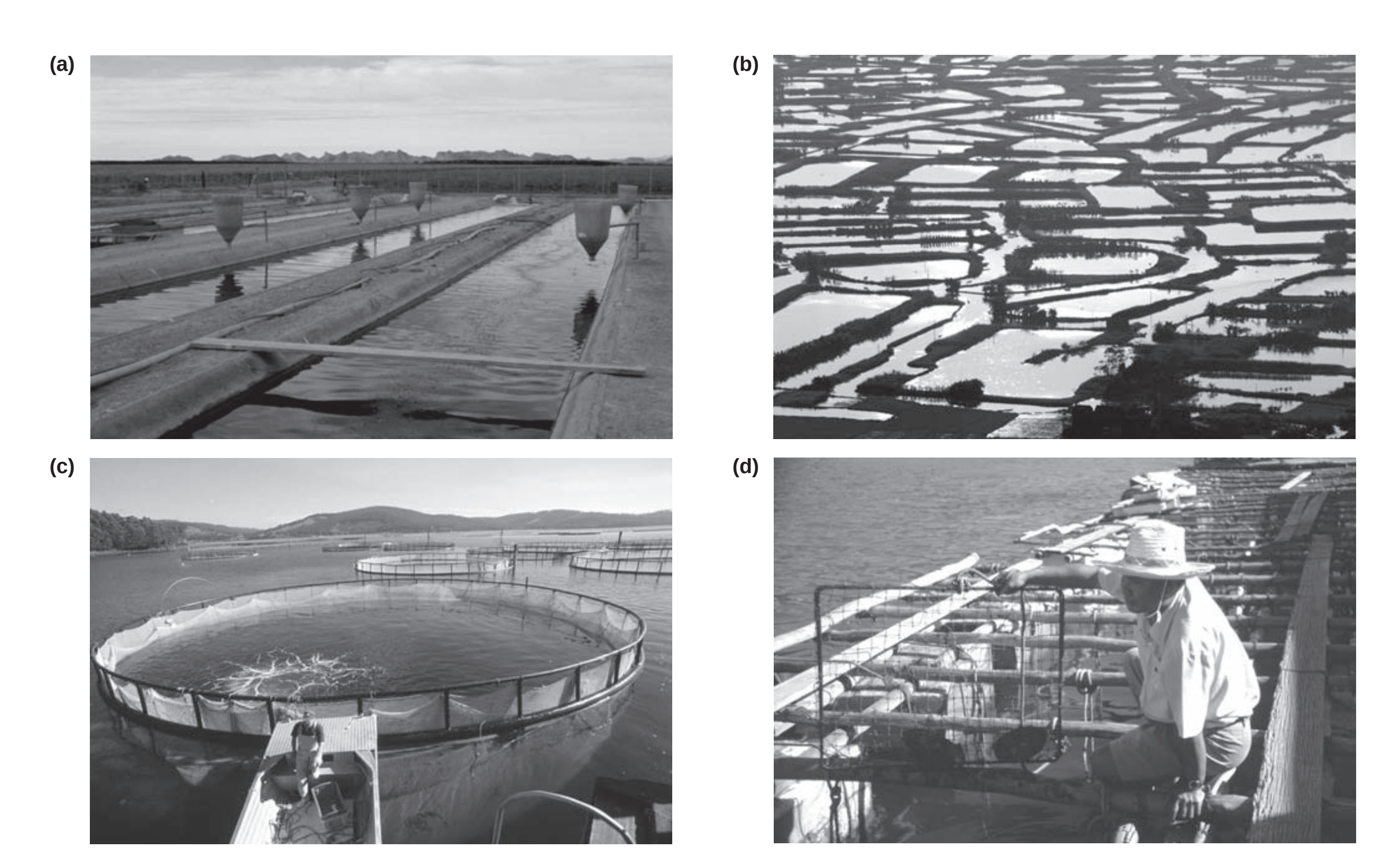


Figura 10.3 Tanques, estanques, recintos y soportes para ostras Existe una gran variedad de técnicas para la producción de peces y marisco, entre las que se incluyen (a) tanques, (b) estanques, (c) recintos para la cría de salmones y (d) sistemas de soportes para ostras y otros mariscos. Muchas de estas técnicas se suelen emplear de forma secuencial a medida que los peces crecen hasta alcanzar el tamaño adecuado para su venta.

tar el rendimiento de una especie en un área determinada y para minimizar la relación costes-beneficios.

La producción de salmones es un excelente ejemplo del proceso de cría de peces. Los huevos y el esperma obtenidos de ejemplares adultos que han recibido alimento para crecer rápidamente se emplean para la fertilización, y los embriones resultantes se crían en tanques hasta la edad de 12 a 18 meses, hasta que alcanzan el tamaño de una cría desarrollada. Las crías desarrolladas se suelen trasladar a recintos cerrados con redes y ubicados en océanos o bahías cercanas a la costa. Según este proceso, la dieta del salmón suele consistir en pienso compuesto por harina de arenques, anchoas, aceite de pescado y subproductos de origen animal y de aves (hueso, carne sobrante, etc.). La comida también puede contener antibióticos y colorantes adicionales para lograr que la carne del salmón cobre un color rosáceo; asimismo, los peces pueden someterse a baños de pesticidas para eliminar los piojos del salmón y otros parásitos. Durante el proceso de cultivo, los acuicultores pueden modificar el sabor de las especies experimentando con tipos de alimentos basados en productos vegetales o con alimentos derivados de pescados. Por último, los pescados sin imperfecciones y del tamaño adecuado se empaquetan para su venta. En la Figura 10.2 se ofrece una descripción general de la piscicultura.

Innovaciones en la piscicultura

Se están desarrollando técnicas innovadoras para la cría de peces. Por ejemplo, en Virginia occidental, los biólogos de piscifactorías aprovechan gran cantidad de minas de carbón abandonadas. Las frías aguas subterráneas de las montañas, así como la procedente de manantiales, han llenado muchas minas, ofreciendo así entornos de alta calidad para la cría de especies de agua fría, como la trucha arco iris y la trucha alpina. Esta técnica también permite dar un uso importante a las minas abandonadas que, de otro modo, no servirían para nada. Se calcula que Virginia occidental tiene suficientes zonas de aguas de minas para aumentar la producción de peces de la tasa actual, que asciende a unos 180.000 kg, a más de 4.500 toneladas al año.

Algunas empresas han realizado experimentos de **policultivos** (también denominados *acuicultivos integrados*) y han cultivado más de una especie en el mismo entorno controlado. El cultivo de especies con diferentes requisitos nutricionales y hábitos alimenticios es un sistema para optimizar los recursos acuíferos. El policultivo puede su-

poner un cultivo conjunto de diferentes especies de peces, peces y marisco, o animales y plantas. Por ejemplo, el cultivo de carpas con plantas como la lechuga es un sistema eficaz. Las raíces de la lechuga absorben nutrientes y productos de desecho de los peces (como el nitrógeno) presentes en el agua y los emplean como abono para potenciar su crecimiento. Otra técnica de acuicultura relativamente nueva supone el empleo de **sistemas hidropónicos.** Estos sistemas son elementos flotantes de pequeño tamaño en los que se cultivan verduras (como tomates o brócoli) o hierbas (como albahaca o cebolletas) sobre soportes por los que fluye el agua residual de los tanques de peces. El policultivo y los sistemas hidropónicos se suelen emplear al criar peces como el siluro, la carpa o la tilapia (Figura 10.4).

Mejora de variedades para la acuicultura

Muchos de los esfuerzos de los acuicultores están relacionados con actividades destinadas a mejorar determinadas calidades, como el ritmo de crecimiento, el contenido en grasa, el sabor, la textura y el color de los peces o el marisco cultivados. Como ya se ha comentado en la sección 10.3, algunas de las estrategias empleadas para mejorar las variedades de acuicultura implican una modificación de las moléculas de los componentes genéticos de los peces. Los científicos estudian los mecanismos de la expresión génica necesarios para la reproducción de peces, así como para su crecimiento y desarrollo; las técnicas de **criopreservación,** almacenamiento de muestras de tejidos y células a temperaturas muy bajas que suelen estar entre –20 °C y –150 °C; y los sistemas de suministro de hormonas diseñados para inducir el desove y acelerar el crecimiento de los peces. Los nuevos conocimientos adquiridos en estas y otras áreas serán de gran ayuda para el sector de la acuicultura.



Figura 10.4 Policultivo de lechuga y tilapia en un sistema hidropónico Sistema hidropónico de cultivo de lechuga en soportes sobre un tanque con tilapias (encarte). El agua del tanque de tilapias, que contiene los residuos de nitrógeno de dichos peces, se emplea para regar los soportes de las lechugas. Las lechugas emplean los residuos del agua como abono, lográndose así un uso eficaz del agua. Al minimizar los costes de la filtración artificial y de la eliminación de residuos, el policultivo reduce la cantidad de agua residual que se desecha al entorno.

En esta sección analizaremos varios ejemplos sobre cómo se pueden mejorar las variedades de peces y mariscos para la acuicultura y comentaremos la utilización de cultivos selectivos para criar especies con las características deseadas. Los piscicultores y los científicos trabajan de forma conjunta para identificar individuos de especies determinadas con las características deseadas. Por ejemplo, en una población de siluros, no todos los individuos crecen al mismo ritmo o tienen las mismas características físicas, como la cantidad de masa muscular con respecto al porcentaje de grasa corporal. Los científicos utilizan diversas técnicas para identificar peces que presenten tasas de crecimiento rápido y gran masa muscular empleando equipos de ultrasonidos. Los peces que presenten el rendimiento más elevado se criarán para dar lugar a nuevas generaciones con mayor masa muscular.

Los científicos también pueden emplear una técnica denominada **bioimpedancia** para realizar un seguimiento del movimiento de una corriente de baja tensión a través de los tejidos para calcular la masa muscular y el contenido de grasa corporal. Los tejidos con alto contenido en masa muscular y baja grasa son más densos que los tejidos grasos. Como resultado, el tejido denso interfiere (impide) con el movimiento de la corriente eléctrica a través del tejido. Estas técnicas se emplean para obtener siluros y otras especies de peces con un mejor sabor y un menor contenido en grasa. Durante décadas, se han empleado técnicas similares para la cría selectiva de ganado, cerdos y otros animales de granja.

Científicos de la unidad de investigación genética del siluro del Departamento de Agricultura de Estados Unidos en Mississippi han obtenido de forma selectiva una nueva variedad de siluro llamada USDA 103 (¡un nombre merecido para un siluro que es un asunto estatal!) que crece entre un 10 y un 20 por ciento más rápido, reduciendo así el tiempo transcurrido entre el nacimiento y la venta en 18-24 meses (consulta la Figura 10.1). Se ha informado de que algunos siluros USDA 103 pueden alcanzar la madurez sexual un año antes que otras especies (a los dos años de edad). En cuanto a los aspectos negativos, los siluros USDA 103 consumen más alimento que otras variedades de siluros.

En Arizona, los investigadores han empleado la cría selectiva para identificar camarones que se han adaptado a aguas con una baja salinidad. Los científicos emplean larvas de camarones que crecen en agua dulce con sal añadida y las crían en tanques de agua con cada vez menores concentraciones de sal. Esto permite la obtención de camarones de alta calidad sin la necesidad de emplear agua salada; además, el agua con baja salinidad se puede reciclar para regar cultivos de frutas y verduras. De este modo, se pueden cultivar camarones en el desierto de Arizona, a cientos de kilómetros del agua salada.

Mejora de la calidad y la seguridad del marisco

La acuicultura se puede combinar con técnicas novedosas de biología molecular para crear especies de peces y marisco con el color, el sabor y la textura que desean los consumidores. Además, los científicos trabajan para aumentar la seguridad de estos alimentos para que no contengan agentes patógenos ni contaminantes químicos.

Igene Biotech de Columbia, Maryland (Estados Unidos), ha empleado técnicas de clonación genética para producir grandes cantidades de **astaxantina,** el pigmento que hace que los camarones tengan el color rosado que los caracteriza. Al incluir astaxantina recombinante en el alimento de los peces, los científicos pueden obtener un salmón y una trucha con carne de diferentes tonalidades. Se cree que la astaxantina también tiene un posible valor como antioxidante que se puede emplear como suplemento nutricional para humanos. La mayoría de las personas prefiere un salmón de color rosa. De hecho, encuestas realizadas a consumidores indican la creencia de que cuanto más rojo es el salmón, más alta es su calidad. Los salmones de color rojo oscuro están altamente cotizados en los mejores bares de *sushi* de Japón. En realidad, el pigmento de astaxantina no influye en el sabor del salmón, pero los productores quieren cultivar lo que prefieran los consumidores. Para ayudar a los productores a obtener los peces que desean los consumidores, la empresa farmacéutica suiza Roche Holding AG, líder en la fabricación de astaxantina, distribuye un «salmofan», que tiene el aspecto de un abanico de colores. Los acuicultores pueden seleccionar las tonalidades de rosa que deseen, desde un rosa claro hasta un rojo oscuro y, a continuación, comprar alimento con la concentración de astaxantina necesaria para obtener peces con el color deseado.

Hoy en día, se emplean diferentes técnicas para mejorar la calidad y la seguridad de los mariscos, y aún se están desarrollando más. Los biotecnólogos acuícolas trabajan para aplicar las técnicas más innovadoras, desde la detección de marisco contaminado hasta la mejora del sabor y la duración de éste. Los científicos marinos emplean técnicas de biología molecular para identificar y analizar los genes codificadores de toxinas que producen organismos marinos con el fin de comprender cómo dichas toxinas pueden causar enfermedades y minimizar los impactos negativos que puede tener para la salud la exposición a dichas toxinas. Se han desarrollado muchos estudios basados en PCR y sondas de DNA para detectar bacterias, virus y numerosos parásitos que atacan a peces y mariscos.

Se ha desarrollado un kit de análisis de anticuerpos portátil para detectar la bacteria *Vibrio cholerae* en las ostras. Este sistema emplea anticuerpos para detectar las proteínas de *V. cholerae,* la bacteria que causa el **cólera,** enfermedad muy grave que produce una diarrea aguda y que puede provocar deshidratación e, incluso, la muerte. El cólera es especialmente grave en los países en desarrollo, que se abastecen de fuentes de agua contaminadas procedentes, a menudo, de centros de tratamiento de aguas residuales inadecuados. Este kit se ha empleado de forma generalizada y exitosa en América del Sur para detectar marisco contaminado y minimizar las infecciones de cólera. Se han empleado técnicas parecidas en Hawai con el fin de desarrollar anticuerpos monoclonales para detectar la ciguatoxina, que afecta a peces de zonas tropicales que se venden en los acuarios.

Se han desarrollado pruebas genéticas para detectar varias enfermedades virales en los camarones. Algunas empresas están desarrollando sondas genéticas para detectar y valorar los efectos del estrés ambiental en peces y mariscos. Algunas de estas técnicas se parecen a las empleadas para detectar polimorfismos de nucleótido simple en humanos con el fin de predecir el riesgo que tiene una persona de padecer una enfermedad genética, tal y como se describe en el Capítulo 11.

Los biotecnólogos acuícolas están interesados en el desarrollo de kits de detección o vacunas para determinados agentes patógenos que suponen serias amenazas para los peces criados con métodos de acuicultura. Varias empresas de acuicultura trabajan para desarrollar una vacuna contra la anemia infecciosa del salmón, una enfermedad mortal que causa hemorragia interna y destruye los órganos internos del salmón. Esta afección es responsable cada año de la muerte de cientos de miles de salmones en todo el mundo. Se están desarrollando investigaciones parecidas para luchar contra los piojos de salmón, como *Caligus elongatus.* Este pequeño parásito se adhiere al salmón, se alimenta de su sangre y produce lesiones visibles que exponen al salmón a infecciones letales.

Científicos de California, Idaho, Oregón y Washington han desarrollado una vacuna de subunidades contra el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (IHN), que es responsable de la pérdida de grandes cantidades de truchas y salmones cada año. La vacuna se ha desarrollado a partir de una proteína de IHN presente en bacterias. Esta vacuna se inyecta en el pez para estimular la producción de anticuerpos contra el virus IHN y protege a los peces contra una posible infección con el virus de IHN.

Barreras y límites de la acuicultura

Aunque la acuicultura está firmemente asentada como aplicación global de la biotecnología acuática y supone un gran potencial de suministro de alimento a través de métodos únicos, existen preocupaciones y obstáculos. No todas las especies se adaptan a la acuicultura. Esto es especialmente notable en el caso de muchas especies marinas muy cotizadas. La mala calidad del agua puede suponer un problema. En el caso de algunas especies, es difícil mantener el agua con un flujo adecuado para suministrar la concentración precisa de nutrientes y eliminar de forma eficaz los desechos que se acumulan con rapidez. Esto es especialmente notable en el caso de especies marinas que requieren grandes extensiones de agua para desplazarse y no sobreviven encerradas en pequeños espacios. Además, antes de alcanzar el tamaño de venta, los organismos marinos suelen tener ciclos de vida largos y

complicados que constan de etapas larvarias, en las cuales se dan distintos requisitos de alimentación. Para criar especímenes adultos de esas especies, la pérdida de crías desarrolladas puede ser muy elevada y, por tanto, poco rentable en cuanto a costes. La acuicultura es más sencilla con especies que poseen pocas etapas larvarias.

Los acuicultores se enfrentan constantemente a la necesidad de minimizar los efectos de las enfermedades en las poblaciones de peces. Dadas las densas y pobladas condiciones en las que crecen muchos peces, los de piscifactorías suelen ser más susceptibles que los peces nativos al estrés y a las enfermedades causadas por patógenos bacterianos y virales, así como a parásitos. Como existe una menor diversidad genética y una menor resistencia a las enfermedades en el caso de peces de piscifactorías, las infecciones se extienden de forma rápida. La mayoría de estas poblaciones tendrá la misma resistencia y susceptibilidad ante las enfermedades; una reserva de peces puede quedar exterminada si no se controla la enfermedad.

Algunos biólogos están preocupados porque el sector de la acuicultura consuma excesivas cantidades de peces naturales, como anchoas y arenques. Aunque algunos de estos peces se crían mediante la acuicultura, en muchas zonas del mundo se siguen obteniendo de las reservas naturales. Para cada kilogramo de salmón, hacen falta varios kilogramos de otros peces capturados en entornos naturales, como anchoas, arenques o caballa, para que el salmón crezca. Un aumento de 0,5 kg en un salmón puede requerir entre 1,3 y 2,3 kg de peces capturados en entornos naturales. Los científicos pretenden poner remedio a los hábitos carnívoros de algunos peces de acuicultura, cambiando su dieta a una basada en vegetales, pero a muchos acuicultores les preocupa la calidad de esos peces. Los partidarios de las dietas basadas en vegetales afirman que a algunas personas puede gustarles que el salmón sepa menos a pescado.

Al igual que sucede con los excrementos y los desperdicios de las granjas tradicionales, que suponen un gran problema en algunas regiones de Estados Unidos, los expertos en medio ambiente están preocupados por la contaminación procedente de la acuicultura. El agua cargada de residuos procedente de ésta, que contiene restos de heces, orina y comida sin tratar, suele verterse en vías fluviales. Estos desperdicios contienen nitrógeno y fósforo y pueden provocar un crecimiento desmesurado de algas, entre otros problemas. Éstas, al morir, extraen el oxígeno del agua, lo que puede provocar la muerte de los peces. Los desechos procedentes de los peces también albergan cepas de patógenos bacterianos como la *Salmonella* y la *Pseudomonas,* que pueden afectar a la salud humana; sin embargo, no se han establecido las probabilidades de que se puedan transmitir enfermedades de aguas residuales procedentes de los peces a los humanos. Hoy en día, se considera que los residuos procedentes de la acuicultura tienen un efecto muy pequeño en la calidad del agua, pero esto puede cambiar a medida que la acuicultura se extienda por todo el mundo.

El exterminio de especies consideradas como «plagas» en los centros de acuicultura es otra preocupación. Algunas especies de aves (como los cormoranes, los pelícanos, las garzas, las garcetas y las gaviotas) y mamíferos (como focas y leones marinos) que se alimentan de peces pueden ser objeto de capturas y exterminios autorizados o no autorizados. Sin embargo, muchos centros emplean métodos no letales, como elementos disuasorios visuales (luces, reflectores, espantapájaros, presencia humana) y dispositivos sonoros (sonidos de depredadores, sirenas, ruidos electrónicos) para luchar contra estas especies consideradas como «plagas». También pueden utilizarse dispositivos explosivos o acústicos subacuáticos, así como vallas y redes de protección para disuadir a los predadores y evitar que capturen peces en las piscifactorías.

También existe cierta preocupación en cuanto a los vertidos de sustancias químicas empleadas en procedimientos de acuicultura. Entre dichas sustancias se incluyen antibióticos, pesticidas, herbicidas (aniquiladores de plantas), alguicidas (aniquiladores de algas) y productos químicos empleados para controlar parásitos. Además, es posible que los peces y mariscos absorban residuos químicos de otros componentes contra las incrustaciones (como los empleados para reducir el crecimiento de lapas, algas y otros organismos) y sustancias anticorrosivas que puedan transmitir más adelante a otros organismos marinos o a los humanos. Una inspección en profundidad realizada en salmones de piscifactorías ha descubierto que contienen niveles superiores de policloruro de bifenilo (PCB) y otros componentes similares relacionados con un mayor riesgo de padecer cáncer que sus parientes salvajes. Este problema es de gran importancia para el sector, y los acuicultores están tratando de encontrar soluciones para reducir los agentes contaminantes en los salmones de acuicultura.

Existen determinadas normas estadounidenses que regulan la acuicultura y su posible efecto en el entorno, incluida la ley de aguas limpias (Clean Water Act), que regula los vertidos, incluidos los de la acuicultura; la ley del tratado de aves migratorias (Migratory Bird Treaty Act), que protege las aves que pueden suponer una amenaza para la acuicultura; la ley de protección de mamíferos marinos (Marine Mammal Protection Act), que prohíbe cazar mamíferos marinos que puedan ser predadores en los centros de acuicultura; la ley federal sobre insecticidas, fungicidas y rodenticidas (Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act), que controla el uso de estas sustancias en los cultivos, incluidos los peces; y la ley sobre comestibles, medicamentos y cosméticos (Food, Drug and Cosmetic Act), que supervisa las aprobaciones del empleo de medicamentos en las piscifactorías y controla la seguridad de los productos del mar.

Los efectos visuales de la acuicultura sobre el paisaje también suponen un problema. Por ejemplo, en algunas zonas de Escocia, preocupa la gran cantidad de jaulas de mariscos situadas a lo largo del litoral, ya que puede dañar la estética natural de los paisajes de la costa. Un problema indicado tanto por los acuicultores y naturalistas es la posible amenaza para especies nativas por parte de peces de piscifactorías que escapen por accidente (consulta el cuadro «Tú decides»).



TÚ DECIDES

Riesgos de la contaminación por peces y de la contaminación genética: controversias sobre la acuicultura y las especies modificadas genéticamente

La expresión contaminación por peces describe la posibilidad de que escapen especies de acuicultura que puedan dañar los ecosistemas naturales alterando o reduciendo la biodiversidad; introduciendo parásitos nuevos; compitiendo con las especies nativas por el alimento, hábitat y zonas de desove; cruzándose con poblaciones nativas; y destruyendo los hábitats. Los peces criados en piscifactorías se escapan. Se han documentado muchos ejemplos de contaminación por peces y sus efectos. Por ejemplo, en algunas vías fluviales de Florida, la tilapia (un tipo de perca de rápido crecimiento con un apetito muy voraz) ha competido con especies nativas como la palometa. Como resultado, algunos peces nativos han desaparecido prácticamente de las zonas contaminadas por la tilapia.

Hay pruebas que indican que los salmones del Atlántico criados en piscifactorías se reproducen en aguas del noroeste del Pacífico. Hay 26 tipos de salmones del Pacífico y truchas arco iris que figuran como especies en peligro. Muchos científicos creen que la pérdida de estas especies nativas se debe a la proliferación de pulgas y otros parásitos procedentes de los peces de piscifactorías. En Noruega, los salmones de piscifactorías que han escapado suponen alrededor del 30 por ciento de los salmones presentes en los ríos locales, y se cree que superarán en número a los salmones de la zona en los arroyos locales. Se cree que han escapado 345.000 salmones de las piscifactorías de la Columbia Británica entre 1991 y 1999.

En diciembre de 2000, vientos del nordeste en Maine (donde la cría de salmones es el segundo producto de acuicultura por detrás de la langosta) arrancaron las jaulas de acero que contenían los salmones criados y permitieron que escaparan 100.000 peces hacia la bahía Machias Bay. Este accidente ha supuesto la mayor liberación de peces de acuicultura en la zona este de Estados Unidos. A muchos les preocupa que estos sucesos debiliten el potencial genético de futuras generaciones de salmones salvajes en los ríos de Maine. El gobierno de Estados Unidos ya ha incluido el salmón salvaje como especie en peligro en ocho ríos de Maine como resultado de la preocupación por el impacto de la acuicultura en la zona.

Las fugas de peces de piscifactorías han hecho que los defensores del medio ambiente y otros grupos se movilicen para obtener una moratoria en las nuevas piscifactorías y para lograr una regulación del sector de la acuicultura. Estos grupos consideran que la contaminación por peces es un problema, ya que los peces de las piscifactorías pueden poner en riesgo las especies nativas y afectar a los ecosistemas acuáticos naturales. Muchas especies de acuicultura se parecen a los animales de las granjas domésticas en que han desarrollado una dependencia del ser humano y no están bien adaptadas a la vida en libertad. Los peces procedentes de piscifactorías pueden afectar genéticamente a las reservas salvajes, ya que compiten con los animales nativos durante la procreación y mediante cruces con especies nativas. Las pruebas también indican que los salmones de acuicultura producen huevos más pequeños y, posiblemente, menos fértiles que los ejemplares silvestres.

Existe una preocupación aún mayor sobre las fugas de especies modificadas genéticamente, como las transgénicas y triploides. Aunque la mayor parte de estas especies no se puede reproducir, no hay ninguna técnica que garantice que todos los peces modificados sean estériles. Los ejemplares transgénicos que escapan y crecen fuera del ámbito de crecimiento previsto no suelen crecer tan bien como lo hacen en el entorno previsto para ellos. Como resultado, si se crían con especies nativas, los cruces resultantes suelen perder capacidades biológicas (capacidad para reproducirse) y crecen más despacio. Al introducir especies transgénicas, es posible que se destruyan sistemas de adaptación que se han desarrollado durante miles de años, disminuyendo así la adaptabilidad de los ejemplares nativos. Los peces con capacidades de crecimiento mejoradas pueden competir con los peces nativos por alimentos o zonas de desove. En 2001, Maryland se convirtió en el primer estado que prohibía la cría de peces modificados genéticamente en estanques y lagos conectados con otras vías fluviales.

Los críticos también citan ejemplos históricos sobre la proliferación de especies no nativas como motivo de preocupación. Por ejemplo, el mejillón cebra europeo (se cree que entró en Estados Unidos en el agua de lastre de barcos trasatlánticos que llegaron a los Grandes lagos durante la década de 1980) ha generado problemas importantes. Las colonias de estos prolíficos moluscos han dominado el hábitat de otras especies y, a través de la alimentación filtrada, han originado un descenso en el plancton nativo de los Grandes Lagos, han bloqueado tuberías y han crecido en los cascos de los barcos. Se calcula que los gastos relacionados con el control de los mejillones cebra sólo en la zona de los Grandes Lagos superan los 290 millones de euros anuales.

Aunque la FDA se implique en la regulación de la seguridad de los peces transgénicos como fuente de alimento, no existen políticas claras para la regulación de la suelta de especies de acuicultura (incluidas las transgénicas) en Estados Unidos. Esto debe cambiar si se pretenden solucionar algunas de las preocupaciones que se han describito. El Departamento de Agricultura de Estados Unidos analiza la situación para crear métodos de valoración del riesgo de especies modificadas genéticamente y de la seguridad de la introducción de organismos de ese tipo en entornos tanto marinos como no marinos. La North American Salmon Convention (NASCO), un organismo para la conservación del salmón atlántico, ha reunido al sector del salmón de acuicultura para desarrollar directrices que eviten la cría de salmones modificados genéticamente en aguas abiertas para evitar cambios genéticos irreversibles y consecuencias imprevisibles provocadas por la aparición de especies manipuladas genéticamente en los ecosistemas naturales.
La mayoría de los científicos opina que la acuicultura y la ingeniería genética son necesarias para producir suficiente comida para satisfacer una población creciente, pero, ¿son quizá superiores los riesgos derivados de estas tecnologías que los de no hacer nada? Tú decides.

El futuro de la acuicultura

¿Qué le depara el futuro al sector de la acuicultura? Gran parte de las actividades estarán relacionadas con algunas de las barreras y limitaciones ya descritas. Para reducir las preocupaciones sobre la pesca desmesurada de poblaciones de peces de cebo, muchos acuicultores tratan de idear métodos para criar especies que requieran otros alimentos que no necesiten tanta carne o aceite de pescado salvaje. Los avances en la cría de peces minimizarán los vertidos de los centros de acuicultura y reducirán el empleo de antibióticos, pesticidas y otras sustancias químicas empleadas para tratar las especies cultivadas. También es probable que se popularicen las técnicas de policultivos.

Como se indica en la sección siguiente, las técnicas de genética molecular tendrán un gran impacto en la acuicultura. Gracias a muchas de las estrategias indicadas en este capítulo, así como a la tecnología de DNA recombinante, los biotecnólogos acuícolas tratarán de aumentar el crecimiento y la productividad de las especies cultivadas, al tiempo que intentarán mejorar su resistencia a enfermedades y la composición genética de importantes especies destinadas al consumo. La biología molecular tendrá un gran impacto en la acuicultura, desde la identificación de los genes que controlan la reproducción y el desove de peces y mariscos hasta la creación de especies modificadas genéticamente con las características deseadas.

El estudio de las condiciones que afectan a la mortalidad de los organismos marinos durante importantes momentos del inicio de su desarrollo permitirá aplicar técnicas de cría nuevas que aumenten la productividad de las especies cultivadas. Muchos países se implican de forma activa en la investigación relacionada con la cría de otras especies que resultan difíciles de cultivar mediante la acuicultura. Por ejemplo, el departamento de recursos naturales (Department of Natural Resources) de Carolina del Sur está experimentando con técnicas de acuicultura para criar cobias, un pez muy popular para la pesca deportiva y con un alto valor comercial. Las cobias recorren zonas profundas en aguas abiertas del océano, por lo que resulta difícil criarlas en entornos cerrados.

Hasta ahora hemos ofrecido una visión completa del sector de la acuicultura, una de las aplicaciones más antiguas de la biotecnología acuática. En esta sección hemos visto que la acuicultura no es diferente de otros sectores; beneficia a la sociedad, pero también plantea algunos problemas. En la sección siguiente exploraremos una disciplina incipiente: la genética molecular de los organismos acuáticos.

10.3 Genética molecular de organismos acuáticos

Para la biotecnología acuática, es vital conocer la complejidad molecular de los organismos acuáticos. Es muy importante poseer conocimientos básicos sobre la expresión génica y la regulación en organismos acuáticos, así como sobre los genes implicados en procesos como la reproducción, el crecimiento, el desarrollo y la supervivencia en condiciones ambientales extremas para fines como el mantenimiento de poblaciones de especies marinas en peligro, la limitación de poblaciones de especies dañinas y los avances en la manipulación genética de organismos acuáticos.

Además, los agentes patógenos que afectan a peces y mariscos ocasionan grandes pérdidas económicas cada año. Los científicos trabajan para mejorar la capacidad de supervivencia de las especies de acuicultura, y emplean la biología molecular para obtener más información sobre el sistema inmune de las especies acuáticas, así como sobre su susceptibilidad y resistencia ante organismos causantes de enfermedades, incluida la transmisión de enfermedades y los ciclos de vida de los propios agentes patógenos.

Una de las aplicaciones más recientes de la genética molecular de organismos acuáticos es la manipulación de la composición genética de especies marinas.

Descubrimiento y clonación de nuevos genes

El proceso de descubrimiento de genes en organismos acuáticos cubre múltiples aspectos interesantes. Por ejemplo, se destinan muchos recursos a la identificación de genes nuevos, al estudio de los factores ambientales que controlan la expresión génica, como los efectos de temperaturas y presiones extremas, a la identificación de las bases moleculares de adaptaciones únicas, así como al estudio de los factores genéticos y moleculares, como las hormonas, que controlan la reproducción, el crecimiento y el desarrollo de los organismos acuáticos. Además de la identificación de nuevos genes, muchos investigadores trabajan para identificar mutaciones relacionadas con enfermedades de los peces. Con el tiempo, esta información se empleará para el desarrollo de peces de cultivo sin enfermedades y con las características seleccionadas. Al identificar genes nocivos que pueden influir negativamente en el crecimiento, la salud y la longevidad de los peces, los científicos creen que podrán modificar o eliminar muchos de esos genes para obtener especies mejoradas para la acuicultura. El descubrimiento de genes que pueden emplearse como sondas para la identificación de organismos marinos microscópicos, como el fitoplancton y el zooplancton (importantes fuentes de alimento de muchas especies marinas), ayudará a los científicos a analizar los efectos ambientales en la genética de estos microorganismos. Se trata de una investigación vital para saber cómo estos organismos microscópicos pueden afectar a organismos que se encuentran por encima de ellos en la cadena alimentaria.

Se están identificando genes marcadores de DNA que se pueden emplear para distinguir peces salvajes de los de criaderos. Los biólogos pretenden emplear estos marcadores para identificar especies que presenten una mayor resistencia a las enfermedades y sean más receptivas a la cría en piscifactorías. Estos marcadores también

resultarán importantes cuando los científicos traten de determinar los efectos que tienen los peces de acuicultura que escapan sobre los peces nativos.

Muchos de estos genes marcadores son específicos para cada especie, y han permitido aplicar técnicas de PCR para investigar casos de cosechas ilegales y lotes de peces que no se ajustaban a los cupos establecidos. Por ejemplo, en la zona nordeste de Estados Unidos, el romerillo es un plato muy apreciado. Sin embargo, la captura indiscriminada de estos peces ha hecho que se establezcan unos estrictos límites de tamaño y de fechas de captura. Si las autoridades sospechan de una pesca furtiva de romerillos durante la temporada de prohibición pero el pescador furtivo sólo tiene filetes y no tiene el resto del cuerpo, ¿cómo pueden determinar a qué pez corresponde dicha carne? Gracias a los cebadores específicos de los romerillos, pueden realizarse pruebas de PCR del DNA aislado de la carne para determinar su procedencia.

La clonación de genes para la obtención de **somatotropina (GH,** por sus siglas en inglés) es un excelente ejemplo de cómo los descubrimientos genéticos pueden permitir avances en la biotecnología marina. En el Capítulo 3, se comentó cómo la clonación de GH de humanos permitió crear tratamientos para el infantilismo. No debemos olvidar que la GH es una hormona producida por la glándula pituitaria que estimula el crecimiento de las células de huesos y músculos durante la adolescencia. La clonación del gen de la somatotropina del salmón ha permitido el desarrollo de especies **transgénicas** de salmones que presentan ritmos de crecimiento muy acelerados en comparación con las variedades nativas. Otro ejemplo es que investigadores de la University of Alabama-Birmingham han clonado el gen de la hormona inhibidora de la muda (MIH, por sus siglas en inglés) en cangrejos azules. La muda se activa mediante un descenso de la MIH, lo que da como resultado cangrejos con caparazones blandos que se pueden comer en su totalidad. Se están realizando investigaciones para bloquear la liberación de MIH para obtener cangrejos blandos según la demanda del sector del marisco.

Proteínas anticongelantes

Uno de los ejemplos más exitosos de la identificación de genes novedosos con diversidad de aplicaciones muy prometedoras es la identificación de genes de **proteínas anticongelantes (AFP).** A/F Protein, Inc., de Waltham, Massachusetts (Estados Unidos), es una empresa líder en la fabricación de proteínas anticongelantes. Muchas de las primeras AFP se aislaron a partir de especies de peces bentónicos como el bacalao oriental, que vive lejos de las costas del este de Canadá, y un pez del Antártico denominado teleósteo que vive en aguas extremadamente frías llenas de hielo; uno de los entornos más severos que existen. Posteriormente, las AFP se han aislado a partir de diferentes especies de aguas frías, como la solla roja *(Pleuronectes americanus),* el pez escorpión común *(Myoxocephalus scorpius),* la babosa vivípara americana *(Marcrozoarces americanus),* el pez plata *(Osmerus mordax)* y el arenque *(Clupea harengus).* Resulta interesante que se hayan descubierto proteínas parecidas en los gusanos de la harina.

Se han descubierto varios tipos de AFP. Estructuralmente, la mayoría de las AFP consta de hélices alfa extensas unidas por grandes cantidades de puentes disulfuro. Las AFP reducen la temperatura de congelación de la sangre del pez y de sus fluidos extracelulares para protegerlo de la congelación en aguas marinas muy frías. El agua marina se congela a –1,8 °C. Las AFP suelen bajar el punto de congelación de los fluidos corporales del pez alrededor de 2-3 °C. En la actualidad, la mayoría de las AFP se ha aislado de la sangre de los peces. Para cubrir la gran demanda que se prevé, los científicos trabajan en la fabricación de una AFP recombinante en células bacterianas y de mamíferos.

Las AFP protegen los organismos vivos contra la congelación de diferentes maneras. Pueden unirse a la superficie de los cristales de hielo para modificar o bloquear su formación, pueden bajar la temperatura de congelación de los fluidos biológicos, y pueden proteger las membranas celulares contra los daños del frío. Debido a estas habilidades exclusivas, se han desarrollado innovadoras aplicaciones para estas proteínas crioprotectoras. Las AFP se emplean para crear plantas y peces transgénicos con una mayor resistencia a temperaturas frías y a la congelación. Por ejemplo, el salmón no puede producir moléculas anticongelantes y, por lo tanto, muere al entrar en contacto con agua casi congelada. Las aguas de la zona este de Canadá son demasiado frías para el salmón salvaje, pero son un posible hábitat de acuicultura para especies de salmón transgénicas resistentes a la congelación con genes de AFP.

También se emplean secuencias activadoras de la expresión de genes de AFP en experimentos de DNA recombinante para estimular la expresión de transgenes, incluida la somatotropina del salmón. La transcripción de las secuencias activadoras de AFP se estimula con las bajas temperaturas. Al unir genes al extremo 3' de las secuencias activadoras de AFP, dichas secuencias se pueden emplear para estimular la transcripción de estos genes *downstream* o subsiguientes en condiciones de aguas frías (Figura 10.5). Por lo tanto, las estructuras de secuencias activadoras de la expresión de genes de AFP pueden emplearse como vectores de transcripción muy eficaces para transcribir genes extraños, lo que tiene como resultado un aumento de la producción de proteína. Dichas estructuras pueden resultar muy eficaces para la ingeniería genética de los peces, como comentaremos en la sección siguiente.

Las AFP se han introducido en plantas para crear cepas transgénicas resistentes al frío como tomates, pero estas plantas aún no están disponibles. Muy pocas plantas comercializadas producen proteínas crioprotectoras de forma tan eficaz como las AFP de los peces. En el caso de muchos cultivos como el trigo, el café, las frutas (p. ej., cítricos, manzanas, peras, cerezas y melocotones), la soja, el maíz o las patatas, los daños derivados de las bajas temperaturas son un problema que se da en todo el mundo. En 1998, las heladas sufridas en California causaron unas pérdidas estimadas de 435 millones de euros en los cultivos de cítricos.

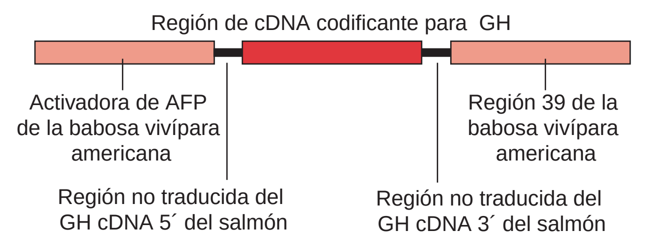


Figura 10.5 Las proteínas activadoras de AFP estimulan la expresión génica en peces transgénicos Puede utilizarse una construcción de plásmidos de DNA recombinante que contiene un activador de expresión de genes con una proteína anticongelante de babosa vivípara americana unida al cDNA de la somatotropina del salmón para obtener peces de acuicultura que crezcan rápidamente. La transcripción del activador de AFP se estimula en condiciones de frío; por lo tanto, los peces transgénicos que contengan esta construcción sintetizarán grandes cantidades de somatotropina cuando se críen en aguas frías. El aumento de la producción de somatotropina hace que los peces transgénicos crezcan más rápido que las variedades nativas no transgénicas.

La crioprotección de células, tejidos y órganos humanos es una prometedora aplicación médica de las AFP. Tal y como se indica en la Figura 10.6, el almacenamiento en frío de oocitos empleados para la fecundación *in vitro* es una posible aplicación. Las AFP pueden resultar útiles para el almacenamiento de determinadas cantidades de tejido humano, incluida la sangre, así como para el desarrollo de nuevos protocolos para el almacenamiento criogénico de órganos humanos, como el corazón o el hígado, antes de su uso en trasplantes.

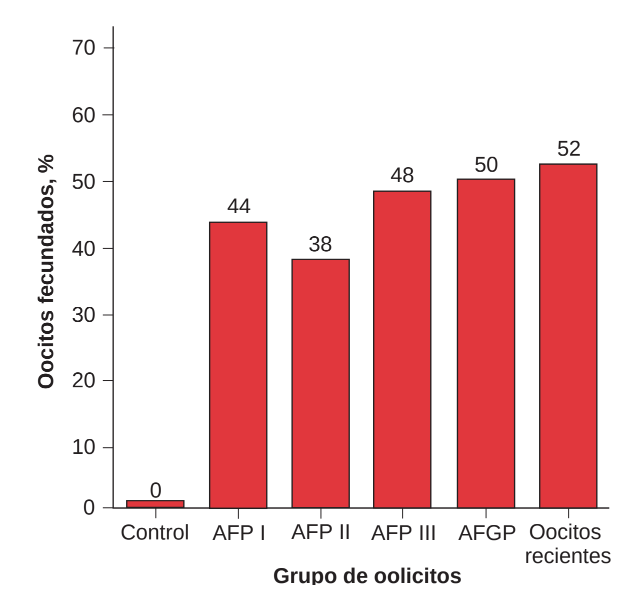


Figura 10.6 AFP como crioprotectores de tejido humano Se incubaron oocitos bovinos durante 24 horas a 4 °C en ausencia (control) o presencia de diferentes tipos de AFP o glucoproteína anticoagulante (AFGP), un tipo de AFP rico en hidratos de carbono; a continuación, se fertilizaron con esperma bovino. Observa cómo los oocitos tratados con AFP y AFGP presentan tasas de fecundación parecidas a las de los oocitos recientes; esto quiere decir que las AFP pueden ofrecer una protección contra el frío a los oocitos, al tiempo que éstos mantienen su capacidad de ser fecundados.

Por último, los científicos están investigando métodos de aplicación de las AFP para mejorar la duración y la calidad de los alimentos congelados, incluidos los helados. A menudo se producen cambios en la calidad de los alimentos congelados durante la descongelación y la recongelación, igual que cuando se compra comida en una tienda y se introduce en el congelador de la cocina. Es posible que las AFP se puedan emplear para alterar las propiedades de cristalización del hielo de los alimentos congelados para mejorar su calidad. Los científicos han propuesto, incluso, emplear AFP para controlar la formación de hielo en aviones y carreteras.

Como puedes ver, las AFP pueden resultar útiles en diversas e interesantes aplicaciones. Sin lugar a dudas, el océano alberga muchas especies que contienen otros genes novedosos que se podrían emplear en un futuro para provecho de la biotecnología.

«Genes verdes»

Un ejemplo destacable de una aplicación de investigación que incluye un gen novedoso procedente de un organismo acuático son las medusas bioluminiscentes *Aequorea victoria.* La *A. victoria* puede brillar en la oscuridad gracias a un gen que codifica una proteína denominada **proteína verde fluorescente (GFP,** por sus siglas en inglés). La GFP emite un brillo de color verde claro al exponerse a la luz ultravioleta. Se calcula que casi tres cuartas partes de todos los organismos marinos poseen capacidades bioluminiscentes. Los peces y otros organismos suelen emplear la bioluminiscencia para encontrarse unos a otros en entornos oscuros del océano durante el período de apareamiento. Recientemente, se han clonado genes de proteínas rojas, naranjas y amarillas procedentes de anémonas marinas, con lo que se ha ampliado la paleta de colores de las proteínas disponibles para los investigadores. En el Capítulo 5 mencionamos que la fluorescencia de algunas especies marinas se obtiene mediante bacterias bioluminiscentes como *Vibrio harveyi* y *Vibrio fischeri.* Comentaremos esto de forma más detallada más adelante en este capítulo.

En el caso de la GFP, los científicos han aprovechado las ventajas de las propiedades fluorescentes de esta proteína para crear estructuras exclusivas de **genes reporteros o marcadores.** Los genes reporteros o marcadores permiten a los investigadores detectar la expresión de determinados genes en un tubo de ensayo, en una célula o, incluso, en un órgano. Tal y como se indica en la Figura 10.7, los plásmidos de genes reporteros se crean vinculando el gen de la GFP a un gen determinado y, a continuación, introduciendo el plásmido reporteros en el tipo de célula deseado. Una vez dentro de las células, estos plásmidos se transcriben y se traducen para producir una proteína de fusión que brilla al exponerse a la luz ultravioleta. Sólo las células que producen GFP pueden producir proteínas de fusión. Así, estos plásmidos permiten detectar dónde se expresa un gen determinado.

Esta técnica se ha empleado con frecuencia para estudiar procesos básicos de la expresión y la regulación de genes. Los biólogos del desarrollo han empleado células

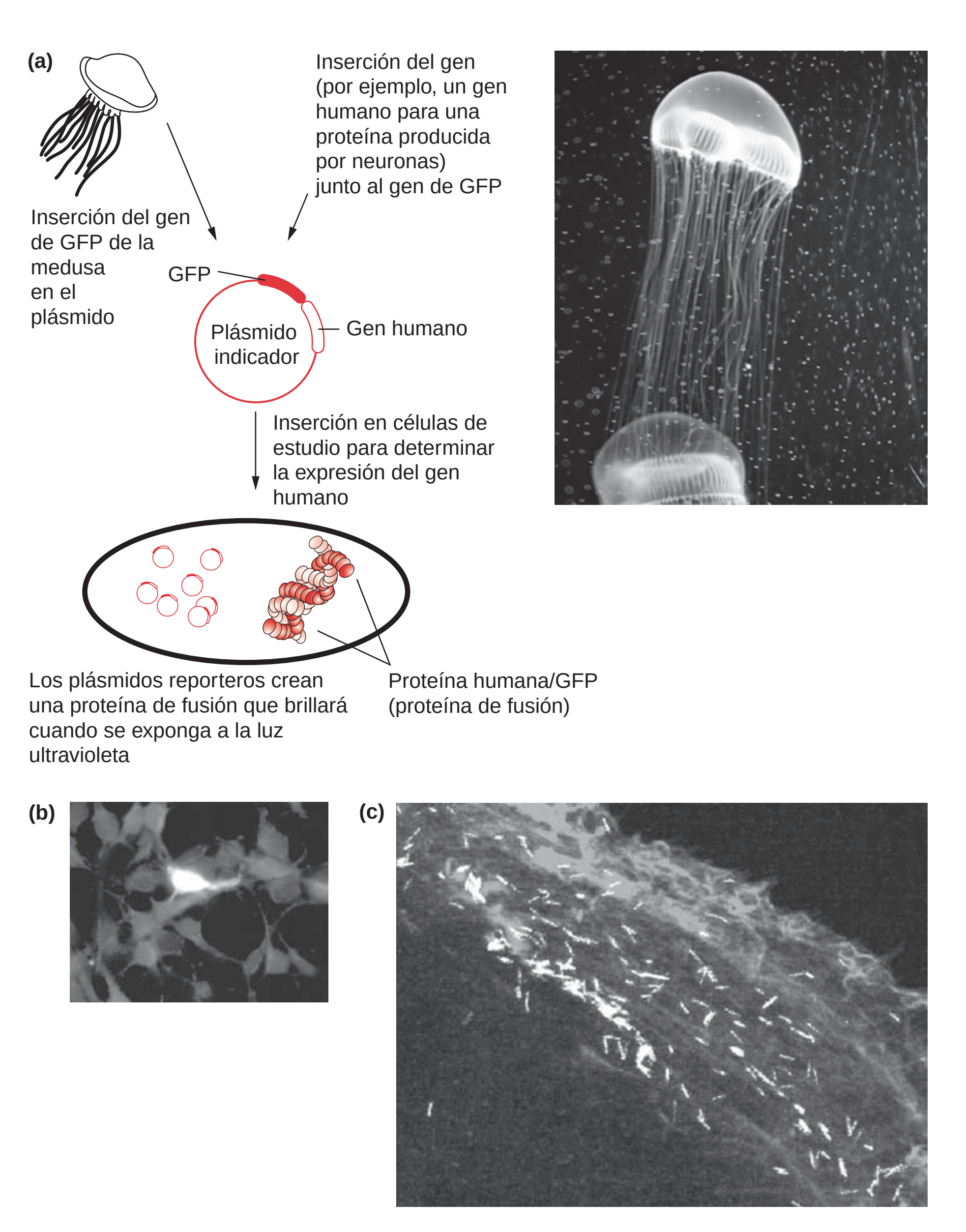


Figura 10.7 El gen de GFP es un valioso gen reportero (a) Las estructuras de genes reporteros de GFP se pueden crear en plásmidos vinculando el gen GFP a un gen determinado. En este ejemplo, se vincula un gen humano que codifica una proteína producida por neuronas al gen de GFP y el plásmido se introduce en las células en cultivo. A continuación, estas células expresan las moléculas de mRNA, que se traducirán para producir una proteína de fusión en la que la GFP se añade a la proteína humana clonada. Las células que producen esta fusión brillarán al exponerse a la luz ultravioleta, indicando así la ubicación de la proteína expresada. (b) Se emplea un gen reportero de GFP para detectar una proteína en neuronas humanas que podría ser la responsable de una enfermedad neurodegenerativa llamada Corea de Huntington. (c) Los plásmidos marcadores de GFP también se han empleado para detectar bacterias causantes de enfermedades en el tracto digestivo humano, como la *Campylobacter jejuni*, que aquí se muestran infectando células intestinales humanas. La *C. jejuni* es un contaminante común del pollo que ocasiona alrededor de 2,4 millones de casos anuales de intoxicación alimentaria en Estados Unidos.

madre embrionarias que expresan GFP para realizar un seguimiento de su diferenciación en distintos tipos de células durante el desarrollo de los embriones. Los científicos también han empleado construcciones génicas reporteras GFP de formas innovadoras para el diagnóstico médico y tratamiento de enfermedades (Figura 10.7b). Por ejemplo, los genes GFP se han empleado para localizar la formación de tumores en ratones, para seguir el progreso de infecciones bacterianas en el intestino, para controlar la muerte de bacterias al aplicar un tratamiento antibiótico, así como para estudiar la presencia de microorganismos que contaminan los alimentos en el tracto digestivo humano (Figura 10.7c).

Clonación de los genomas de patógenos marinos

Los biólogos marinos están interesados en la clonación de genomas de diversos patógenos marinos que afectan a especies silvestres y cultivadas con el objetivo de obtener información sobre los genes que emplean estos organismos para reproducirse y causar enfermedades. En 2001, científicos chilenos descifraron el genoma de la bacteria *Piscirikettsia salmonis.* La *P. salmonis* infecta al salmón y causa una enfermedad llamada síndrome rickettsial, que afecta al hígado del salmón infectado y le causa la muerte. La lucha contra este síndrome es un problema general para los criadores de salmón. En la actualidad, no existe ningún tratamiento. Sólo en Chile, este síndrome ocasiona unas pérdidas aproximadas de 72 millones de euros anuales en el sector del salmón.

Con la información obtenida sobre el genoma de los patógenos, los científicos podrán desarrollar estrategias para reforzar el sistema inmune de especies cultivadas para mejorar su resistencia frente a los agentes patógenos. Por ejemplo, se podrían inyectar genes o proteínas de *P. salmonis* en salmones a modo de vacuna para estimular

al sistema inmune para defenderse contra las infecciones causadas por estas bacterias.

Se están realizando estudios similares sobre genomas para comprender la composición genética del *Pfiesteria piscicida,* un dinoflagelado tóxico que algunos científicos consideran responsable de muchísimas muertes de peces y enfermedades de mariscos. El *P. piscicida* también ha causado muertes y enfermedades en peces de centros de acuicultura desde la zona del Atlántico medio hasta la Costa del golfo. En los peces, el *P. piscicida* causa lesiones, hemorragia y otros síntomas que pueden provocar la muerte del pez infectado. Una de las razones por las que este agente patógeno ha despertado tanto interés, rozando la histeria en algunas zonas costeras que han sufrido importantes reducciones en sus bancos de peces, se debe a que las pruebas indican que las toxinas de *P. piscicida* pueden tener importantes efectos en la salud humana.

Los científicos están investigando aplicaciones de estas técnicas moleculares en la lucha contra enfermedades y parásitos que han erradicado prácticamente la recolección comercial de ostras en varias zonas de Estados Unidos. En todo el país, las ostras han estado amenazadas. Como resultado de una recolección desmesurada, la contaminación, la destrucción de su hábitat y las enfermedades provocadas por parásitos y virus, las reservas de ostras se han agotado en muchas zonas antes conocidas como grandes proveedoras de ostras para el consumo humano. Los protozoos han causado grandes daños en las poblaciones de ostras del este de Estados Unidos. Los parásitos Dermo *(Perkinsus marinus)*, SSO *(Haplosporidium costale)* y MSX *(Haplosporidium nelsoni)* han hecho estragos en las poblaciones de ostras americanas *(Crassostrea virginica)* en muchas zonas del país, como la bahía de Chesapeake Bay en Maryland y la bahía de Delaware Bay en Nueva Jersey. Se han producido problemas similares en la Costa del golfo y en el litoral californiano.

Hasta hace poco, parte de la dificultad a la hora de combatir estas enfermedades era la falta de una cantidad suficiente de parásitos para su estudio. Para solucionar dicho problema, se han empleado técnicas de cultivo celular. Hoy en día, los investigadores están obteniendo mucha información sobre la biología molecular de Dermo, SSO y MSX. Se han empleado técnicas moleculares para obtener información sobre el ciclo de vida de estos parásitos y, ahora disponemos de sondas de DNA para su detección en mar abierto y en centros de acuicultura. Por ejemplo, las técnicas basadas en PCR han resultado ser muy eficaces para una detección rápida y eficaz de Dermo, SSO y MSX, permitiendo así a los acuicultores analizar e identificar las ostras antes de que se expandan las infecciones (Figura 10.8).

El conocimiento más amplio sobre los genes relacionados con el sistema inmune de las ostras ha permitido elaborar estrategias nuevas de transferencia de genes para conseguir la resistencia ante enfermedades de especies como la ostra del Pacífico *(Crassostrea gigas)* a especies más susceptibles de ostras americanas como la *C. virginica.* En un futuro, tal vez sea posible crear especies de ostras transgénicas que presenten resistencia a los daños provocados por estos y otros parásitos.

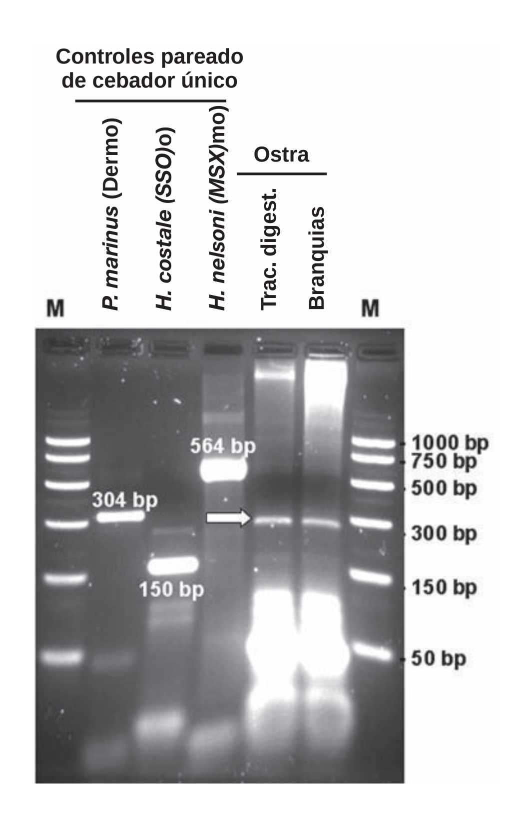


Figura 10.8 La PCR se puede emplear para detectar el DNA de patógenos de la ostra Las infecciones Dermo, SSO y MSX son importantes causas de mortalidad en las ostras. Pueden emplearse PCR para detectar el DNA de estos patógenos en los tejidos de las ostras, ayudando así a los científicos a determinar cuándo están presentes estos parásitos con el fin de controlar una infección que puede diezmar las poblaciones de estos moluscos. En este ejemplo, observa que las muestras de DNA del tracto digestivo y las branquias de una ostra indican la presencia de DNA de Dermo (indicado mediante una *flecha*). En M, se indican los marcadores de tamaño del DNA.

La genómica y los organismos acuáticos

No es sorprendente averiguar que las técnicas genómicas se han empleado para analizar los genomas de determinadas especies acuáticas. En 2006, un equipo internacional de científicos anunció que se había realizado un esquema casi completo del genoma del erizo de mar. El erizo de mar es un tipo de equinodermo, que es un conjunto de animales marinos que incluye las estrellas de mar y los pepinos de mar. Se cree que los erizos son una especie con más de 540 millones de años de antigüedad. Su genoma ha sido de gran interés para los biólogos moleculares, ya que los erizos de mar comparten un ancestro con los humanos. A partir de este ancestro, surgió el superpfhylum de animales denominados deuterostomos; entre los que estaban los equinodermos, los humanos y otros vertebrados. Como los deuterostomos están más estrechamente vinculados entre sí que con otros animales que no forman parte de este superpfhylum, los científicos esperan que los erizos sean genéticamente similares

a los humanos. Si esto resulta ser cierto, los erizos pueden convertirse en modelos experimentales muy valiosos para los biólogos moleculares.

Manipulación genética de peces y mariscos

Los biólogos de todo el mundo emplean técnicas genéticas para crear variedades de peces y mariscos con las características deseadas, como un ritmo de crecimiento más rápido y resistencia a las enfermedades. En la Tabla 10.2, se muestran ejemplos de distintas especies que se han modificado genéticamente con diversos objetivos.

Especies modificadas genéticamente: transgénicas y triploides

En capítulos anteriores hablamos sobre cómo se pueden crear organismos *transgénicos*. Los peces transgénicos, al igual que otras especies transgénicas, contienen DNA de otras especies; el interés por los peces transgénicos ha aumentado a medida que se ha desarrollado el sector de la acuicultura. Los acuicultores quieren emplear técnicas de DNA recombinante para modificar genéticamente peces que puedan crecer más deprisa y de un modo más sano.

Tal y como se indica en la Tabla 10.3, muchas especies se han modificado genéticamente para sus posibles usos en el sector de la acuicultura. Se han insertado genes ajenos en peces y mariscos para acelerar su crecimiento, aumentar la tolerancia al frío y la resistencia ante enfermedades, así como para alterar la calidad de la carne para mejorar su valor culinario. Aunque hace años que se emplean variedades transgénicas de maíz, soja y tomates en Estados Unidos, la FDA aún no ha aprobado ningún pez transgénico para consumo humano. A/F Protein, Inc., ha solicitado la aprobación por parte de la agencia para comercializar peces transgénicos que contienen genes de AFP. Hay muchas otras empresas que también desean obtener la aprobación de la FDA para la venta de peces transgénicos. Cuba es el país más evolucionado del mundo en cuanto al empleo de alimentos modificados genéticamente, en especial, el marisco. En Cuba ya se comercializan tilapias modificadas genéticamente para el consumo humano.

Aqua Bounty Farms (Waltham, Massachusetts) ha producido salmones del Atlántico transgénicos con un gen de somatotropina del salmón chinook, una especie que presenta un crecimiento más rápido y un tamaño adulto más grande que el de la mayoría de los salmones del Atlántico. Estas especies transgénicas crecen alrededor de un 400-600 por ciento más rápido que el salmón no transgénico (Figura 10.9 en la página 249). Estos peces alcanzan el tamaño de venta en 18 meses, en lugar de los habituales 30 meses. Aqua Bounty lleva más de diez años tratando de obtener la aprobación de la FDA para estos salmones, aunque los datos no indican ninguna diferencia en su valor nutritivo, aspecto o sabor en comparación con el salmón salvaje.

De igual manera, las empresas noruegas han desarrollado tilapias cultivadas y modificadas genéticamente que crecen casi el doble de rápido que la tilapia silvestre. Existen controversias sobre si la modificación genética realmente mejora el crecimiento de las truchas de acuicultura. Se han realizado diversos estudios conflictivos; sin embargo, las variedades transgénicas como las del salmón y la trucha de acuicultura suelen presentar tasas de crecimiento superiores en comparación con las variedades domésticas no transgénicas.

En 2004, Yorktown Industries de Austin, Texas (Estados Unidos), saltó a las primeras páginas de los periódicos cuando anunció que había creado el GloFish, una variedad transgénica de pez cebra que contenía un gen de proteína fluorescente roja procedente de anémonas marinas. Anunciado como el primer pez modificado genéticamente puesto a la venta en Estados Unidos, el GloFish brilla en color rosa cuando recibe luz ultravioleta. Algunos grupos contrarios a la biotecnología protestaron por esta nueva utilización de la ingeniería genética.

Aunque las especies transgénicas son el tipo más común de especies marinas modificadas genéticamente, se han creado algunas especies **poliploides**. Los poli-

Tabla 10.2 PECES Y MARISCOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE

Especies de peces	Marisco
Camarón peneido	Almejas
Carpa común	Oreja de mar
Carpa dorada	Ostras
Carpa de fango	
Colmilleja	
Dorada	
Lubina estriada	
Lucio	
Lucio/perca americana	
Medaka	
Pargo	
Perca americana	
Pez cebra	
Pez killi	
Pez momia	
Pez Wuchang	
Salmón chinook	
Salmón coho	
Salmón del Atlántico	
Siluro de canal	
Tilapia	
Trucha arco iris	

Fuente: Adaptación de Goldberg, R., y Triplett, T. (2000): *Something Fishy*. Environmental Defense, www.environmentaldefense.org.

Tabla 10.3 ESPECIES MODIFICADAS GENÉTICAMENTE PROBADAS PARA LA ACUICULTURA

Especies	Gen ajeno	Efectos deseados y comentarios	País
Salmón del Atlántico	AFP	Tolerancia al frío	Estados Unidos, Canadá
	AFP y GH de salmón	Aumento del crecimiento y de la eficacia de la alimentación	Estados Unidos, Canadá
Salmón coho	GH + AFP de salmón chinook	Tras 1 año, un crecimiento de 10 a 30 veces superior	Canadá
Salmón chinook	AFP y GH de salmón	Aumento del crecimiento y de la eficacia de la alimentación	Nueva Zelanda
Trucha arco iris	AFP y GH de salmón	Aumento del crecimiento y de la eficacia de la alimentación	Estados Unidos, Canadá
Trucha clarki	GH + AFP de salmón chinook	Aumento del crecimiento	Canadá
Tilapia	AFP y GH de salmón	Aumento del crecimiento y de la eficacia de la alimentación; GH de herencia estable	Canadá, Reino Unido
	GH de tilapia	Aumento del crecimiento y herencia estable	Cuba
	Gen modificado de producción de insulina de tilapia	Producción de insulina humana para diabéticos	Canadá
Salmón	Gen lisosomal de trucha arco iris y gen de la pleurocidina de platija	Resistencia a enfermedades; aún en fase de desarrollo	Estados Unidos, Canadá
Lubina estriada	Genes de insectos	Resistencia a enfermedades; aún en primeras fases de investigación	Estados Unidos
Siluro de canal	GH	Aumento del crecimiento en un 33 por ciento en condiciones de cultivo	Estados Unidos
Carpa común	GH de salmón y humano	Aumento del crecimiento en un 150 por ciento en condiciones de cultivo; mayor resistencia a enfermedades; tolerancia de bajos niveles de oxígeno	China, Estados Unidos
Carpa dorada	GH AFP	Aumento del crecimiento	China
Oreja de mar	GH de salmón coho + varios activadores	Aumento del crecimiento	Estados Unidos
Ostras	GH de salmón coho + varios activadores	Aumento del crecimiento	Estados Unidos
Conejo	Gen de producción de calcitonina de salmón	Producción de calcitonina para controlar la pérdida de calcio en los huesos	Reino Unido
Fresas y patatas	AFP	Mayor tolerancia al frío	Reino Unido, Canadá

Nota: El desarrollo de organismos transgénicos requiere la inserción del gen correspondiente y de un activador, que es el conmutador que controla la expresión del gen. AFP, gen de proteínas anticongelantes (peces planos árticos); GH, gen de la somatotropina.

ploides son organismos con un mayor número de *dotaciones cromosómicas completas*.

Como ya hemos mencionado, la mayoría de las especies de animales y plantas son **diploides** (abreviado como $2n$, donde n = número de cromosomas); esto quiere decir que tienen dos dotaciones cromosómicas en sus células somáticas y una sola dotación, o dotación **haploide** (n), en sus gametos. En el hombre, la dotación cromosó-



Figura 10.9 Salmón transgénico El salmón transgénico, que cuenta con una mayor expresión de genes de somatotropina, presenta tasas de crecimiento muy aceleradas en comparación con las variedades silvestres y con las variedades de salmones domésticos no transgénicos. Como promedio, el peso de estas variedades transgénicas de salmones es 10 veces superior al de los salmones no transgénicos.

mica haploide es 23; por lo tanto, la dotación cromosómica diploide en las células somáticas humanas es 46 ($2n = 46$). En la Figura 10.10, se muestra una representación simple de las diferencias entre las especies haploides, diploides y poliploides.

La mayoría de las especies marinas poliploides surgidas hasta estos momentos son especies **triploides.** Los organismos triploides constan de tres dotaciones cromosómicas *(3n).* Pueden emplearse diferentes técnicas para crear triploides. Los triploides suelen obtenerse sometiendo los huevos de los peces a un cambio de temperatura o a un tratamiento químico que interfiere en la división de los óvulos. Los huevos que reciben este tratamiento maduran con una dotación cromosómica adicional.

Por ejemplo, el tratamiento de huevos con **colchicina,** una sustancia química derivada de la flor del cólquico de otoño *(Colchicum autumale),* es una técnica habitual para crear poliploides (Figura 10.11a). La colchicina bloquea la división celular interfiriendo en la formación de microtúbulos, necesarios para la división celular. Como resultado, los cromosomas se duplican en los óvulos tratados, pero estas células no son capaces de dividirse. Por lo tanto, dichos huevos tienen una dotación cromosómica diploide, el doble de la dotación cromosómica normal. La fecundación de un óvulo de este tipo por parte de un espermatozoide haploide normal tiene como resultado un organismo triploide. Otra técnica para producir triploides es la fertilización de un huevo haploide normal con dos espermatozoides (Figura 10.11b). El embrión resultante es un triploide que contiene una dotación cromosómica del huevo y otra dotación de cada uno de los dos espermatozoides diferentes.

La poliploidía suele influir en los rasgos de crecimiento de un organismo. Los organismos triploides suelen crecer más rápido, en la mayoría de las especies entre un 30 y un 50 por ciento más rápido, y alcanzan un tamaño mayor que el de sus primos diploides normales. Sin embargo, la mayoría de los organismos triploides son estériles porque producen gametos con un número anormal de cromosomas o, en ocasiones, no producen ningún gameto. Una de las primeras variedades de peces triploides que se empleó fue la carpa china triploide *(Ctenopharyngodon idella).* Dicha carpa posee un apetito voraz y consume varios tipos de vegetación acuática. A principios de la década de 1960, el servicio estadounidense U.S. Fish and Wildlife Service importó carpas chinas diploides, nativas de Malasia.

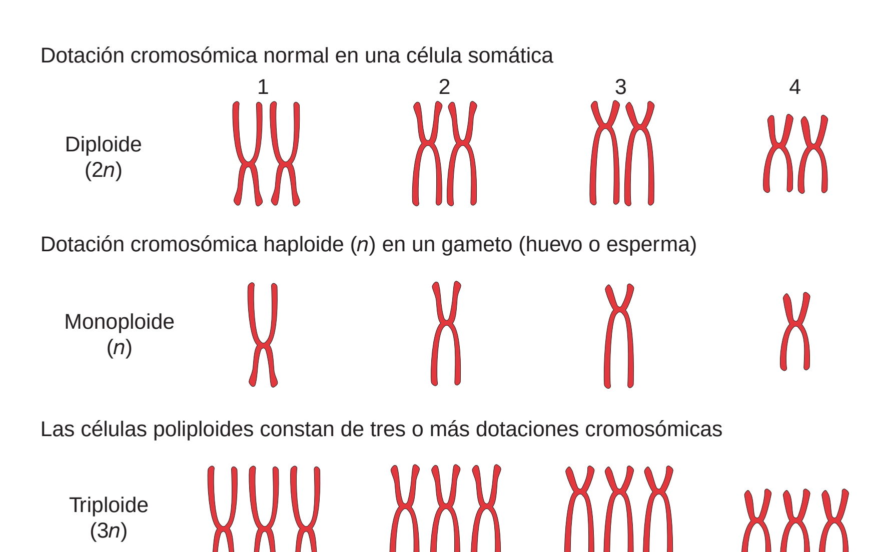


Figura 10.10 Las especies poliploides presentan variaciones en dotaciones cromosómicas completas Las células somáticas de muchos animales y plantas tienen una dotación cromosómica diploide, mientras que los gametos tienen una sola dotación cromosómica, o dotación haploide. Los poliploides constan de tres o más dotaciones cromosómicas. Aquí se muestran los cromosomas de un organismo con dotaciones cromosómicas diploides ($2n$) de ocho cromosomas. Aunque pueden crearse organismos tetraploides ($4n$) y pentaploides ($5n$), la gran mayoría de las especies poliploides marinas son triploides ($3n$).

(a) Tratamiento químico para interrumpir el movimiento cromosómico

Diploide
$2n = 4$

Meiosis I

1) Durante la meiosis I, los cromosomas no se disocian de forma adecuada y producen un gameto sin cromosomas y otro con $2n$ cromosomas.

Meiosis II

2) Tras la segunda división meiótica, el gameto $2n$ se fusiona con un gameto normal, dando lugar a un individuo triploide.

\+

óvulo $2n$

espermatozoide n

Triploide $3n$

(b) Fecundación múltiple

óvulo n

espermatozoide n

1) Un óvulo haploide normal es fecundado por dos espermatozoides normales.

Haploide

2) El individuo triploide resultante tiene dos cromosomas del óvulo y cuatro más de los dos espermatozoides.

Triploide $3n$

Figura 10.11 **Creación de un organismo triploide** (a) Los óvulos pueden tratarse químicamente para bloquear el movimiento cromosómico durante la división celular para producir huevos diploides. (b) Cuando estos huevos son fecundados por un espermatozoide haploide normal, surgen crías triploides. También puede obtenerse un individuo triploide fecundando un óvulo haploide normal mediante dos espermatozoides haploides normales.

A principios de la década de 1980, se desarrolló la carpa china triploide aplicando cambios bruscos de temperatura a los huevos para crear huevos diploides y fecundando dichos huevos con espermatozoides haploides normales. Los organismos triploides crecen rápidamente y pueden superar los 11 kg. Debido a su capacidad para consumir grandes cantidades de vegetación, la carpa china se ha hecho muy popular para controlar el crecimiento de las algas en estanques y lagos de agua dulce de Estados Unidos. Las carpas chinas triploides se convirtieron enseguida en las favoritas de los encargados del mantenimiento de estanques y lagos, que podían introducir estos peces de forma «natural» para controlar el crecimiento de las algas, minimizando la necesidad de emplear grandes cantidades de herbicidas químicos.

Sin embargo, en algunas vías fluviales, la sobrepoblación de carpa china (la carpa china tiene muy pocos depredadores naturales) ha sido tan eficaz en su labor de comerse la vegetación acuática que la calidad del agua ha cambiado sustancialmente. La drástica reducción de las algas que empleaban como hábitat muchos peces de pesca deportiva, como la trucha y la carpa, ha empeorado la pesca en aguas que antes eran muy prolíficas. Además, muchos triploides han escapado a aguas situadas junto a sus emplazamientos originales, produciendo pérdidas en la vegetación de zonas como marismas y lagos naturales que no necesitaban un control de algas. Por último, se han documentado casos de reproducción de estos peces supuestamente estériles.

Otro éxito de los poliploides es la ostra triploide, que revitalizó el sector de la ostra en la costa oeste estadounidense. La producción de ostras suele ser de temporada, ya que se ve muy influenciada por las condiciones atmosféricas, los patrones de reproducción y el hábitat. Se ha desarrollado una variedad triploide de la ostra del Pacífico que se puede recolectar durante todo el año; además, las ostras triploides alcanzan un tamaño muy superior al de las ostras diploides (Figura 10.12). Las variedades diploides suelen acumular azúcares en su tejido y se hacen más finas, ya que gastan energía durante el desove. Las ostras finas no son apreciadas en el mercado. Como las ostras triploides no desovan, aumentan sus reservas de grasa durante todo el verano y por ello están listas para la venta.

En la sección siguiente, analizaremos las aplicaciones médicas de algunos organismos acuáticos.

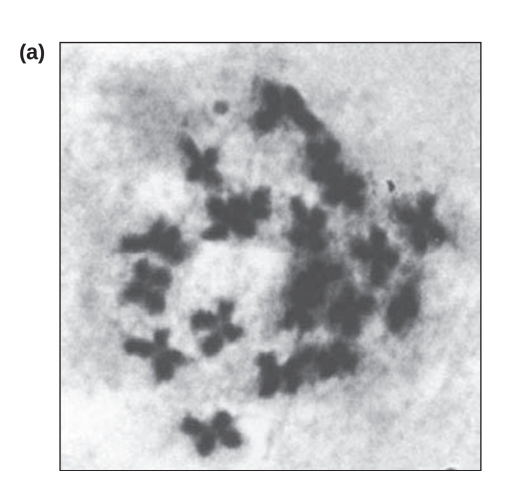
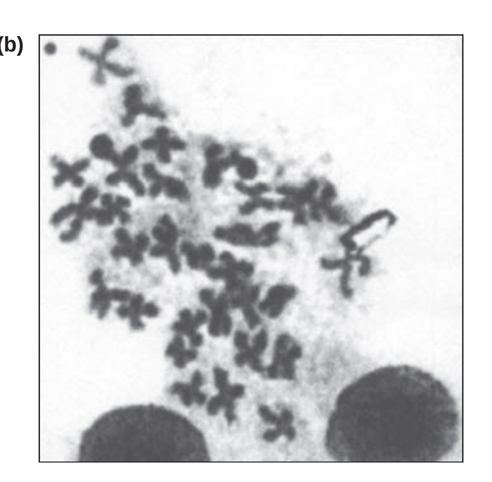
(a)

(b)


Figura 10.12 Ostras triploides (a) La ostras del Pacífico (*Crassostrea gigas*) silvestre es un organismo diploide con dos dotaciones de 10 cromosomas. (b) Las variedades triploides de *Crassostrea* tienen tres dotaciones ($3n$) de 10 cromosomas.

10.4 Aplicaciones médicas de la biotecnología acuática

Hay relativamente pocos productos derivados de organismos acuáticos que tengan aplicaciones médicas, pero esta tendencia está cambiando rápidamente. Muchos científicos creen que los océanos y los entornos de agua dulce son una potencial fuente ilimitada de productos médicos. En un futuro, se prevé que la creación de nuevos e importantes tipos de fármacos se basará en organismos acuáticos y se empleará para provecho humano. Los organismos marinos se emplearán como modelos biomédicos para analizar, diagnosticar y tratar enfermedades del ser humano.

Fármacos y medicamentos procedentes del mar

Existe una gran cantidad de especies marinas que contienen o puede que contengan componentes de interés biomédico, incluidos antibióticos, moléculas antivirales, componentes antineoplásicos e insecticidas. Estas especies son, entre muchas otras, las esponjas de mar, los miembros del phylum Cnidaria (hidras, medusas, anémonas y diversos corales), los phylum Mollusca (caracoles, ostras, almejas, pulpos y calamares) y los tiburones. La diversidad de organismos marinos que se están estudiando es muy amplia. A medida que avanzan las investigaciones, hay muchos motivos para pensar con optimismo que las aguas de nuestro planeta darán lugar a nuevos tratamientos médicos. El futuro resulta prometedor para las aplicaciones de los «fármacos de las profundidades». Podemos tener en cuenta varias posibles aplicaciones médicas de los productos acuáticos.

La **osteoporosis** es una afección caracterizada por la pérdida progresiva de masa ósea que hace que los huesos se vuelvan porosos y quebradizos, lo que puede producir fracturas de cadera, de piernas y de articulaciones, algo que afecta gravemente a la calidad de vida del afectado. Más del 90 por ciento de los 25 millones de estadounidenses afectados por la osteoporosis son mujeres. El tratamiento habitual para la osteoporosis es el tratamiento con estrógenos. Esta medicación no resulta eficaz para todas las mujeres, y los efectos que tiene sobre la salud el consumo prolongado de estrógenos son motivo de preocupación. Otras personas reciben tratamientos con **calcitonina** recombinante procedente de seres humanos, una hormona tiroidea que estimula la producción de calcio y la calcificación de los huesos, y que inhibe las células que degradan los osteocitos, llamadas osteoclastos. Recientemente, los investigadores han descubierto que algunas especies de salmón producen un tipo de calcitonina con una bioactividad 20 veces superior a la de la calcitonina humana. Las fórmulas clonadas de calcitonina de salmones ya están disponibles en forma de inyección y de vaporizador nasal.

Los exquisitos diseños de los arrecifes de coral surgen a partir de los esqueletos de los corales. Estas estructuras constan, en parte, de **hidroxiapatita (HA),** un componente importante de la matriz que forma tejidos óseos y cartilaginosos en los animales (incluido el ser humano). La empresa de biotecnología Interpore International ha desarrollado una tecnología que permite implantes de HA que se cortan en pequeños segmentos y se emplean para rellenar huecos en huesos fracturados.

PyR

P ¿Cómo descubren los científicos los productos acuáticos bioactivos que se pueden emplear en tratamientos médicos?

R Este proceso suele comenzar con la simple observación. Alguien que estudia una especie marina se da cuenta de un comportamiento inexplicable o percibe algo interesante. Por ejemplo, los salmones de edad avanzada no parecen verse gravemente afectados por la osteoporosis. ¿Significa esto que producen hormonas que afectan a la densidad ósea? A menudo, se emplean técnicas biomédicas clásicas para tratar de responder a preguntas como ésta; se aíslan las moléculas activas. Los tejidos se uniformizan y se separan mediante técnicas bioquímicas y, a continuación, se suelen analizar mediante cultivos celulares *in vitro* para valorar la actividad biológica. Si se detectan moléculas activas, se pueden clonar los genes responsables de la producción de estas moléculas (tal y como se describe en el Capítulo 3).

Estos segmentos quedan, finalmente, cubiertos por células de tejido conjuntivo locales que aceleran la reparación. Como resultado, los pacientes no necesitan trasplantes óseos de otras zonas de su cuerpo. Estos implantes también sirven para recuperar material óseo perdido alrededor de la raíz de una pieza dental.

De forma parecida, se han identificado ciertos adhesivos en resinas pegamentosas producidas por mejillones y otros moluscos. Los mejillones *(Mytilus edulis)*, plato favorito en muchos restaurantes de marisco, son moluscos con concha de bisagra que viven en entornos duros y muy exigentes físicamente. Suelen adherirse a rocas en los bordes de los océanos y las bahías. Día tras día, estas criaturas soportan las arremetidas de las olas. Se secan cuando baja la marea y, cuando de nuevo sube la marea, quedan sumergidas y son golpeadas por las olas. ¿Cómo se mantienen pegadas a rocas y otras estructuras sin romperse o desprenderse? La respuesta la encontraremos en un superadhesivo rico en proteínas con una fórmula exclusiva denominado **fibras bisales** (Figura 10.13).

Las fibras bisales son mucho más resistentes y elásticos que los tendones del ser humano, incluso son más resistentes que el acero. Las propiedades adhesivas y elásticas de las fibras bisales absorben la energía y la fuerza de los tirones de las olas. Aunque resultaría extremadamente caro aislar las fibras bisales de los mejillones de forma directa (harían falta alrededor de 10.000 mejillones para obtener 1 g de adhesivo), los científicos emplean técnicas de DNA recombinante para lograr la expresión de los genes de fibra de biso en bacterias y levaduras para producir estas proteínas adhesivas a gran escala.

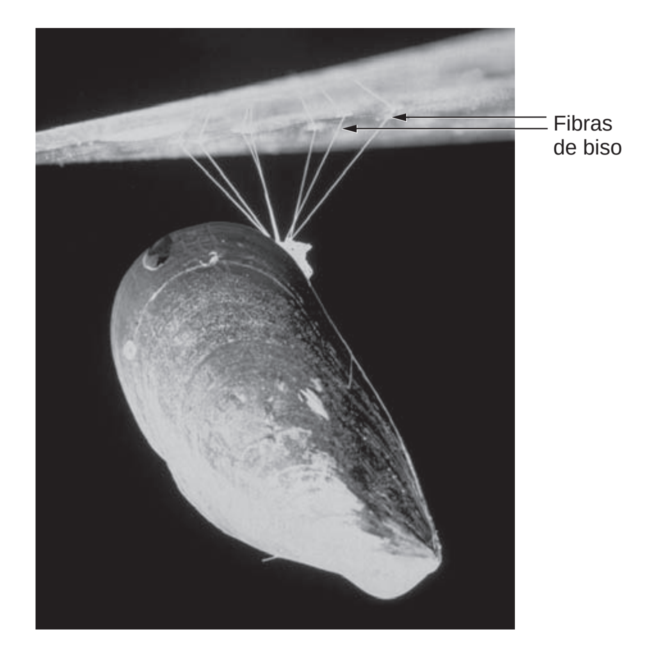


Figura 10.13 Los mejillones producen adhesivos únicos Los mejillones y otros moluscos se adhieren a las rocas y a otras superficies mediante un tipo de adhesivo exclusivo denominado fibra de biso. Las fibras bisales son muy resistentes. Estas fibras pueden soportar grandes tensiones físicas, como las que crean las olas en las aguas que habitan los mejillones. Debido a su resistencia y capacidad de estiramiento, las fibras bisales se han sometido a investigaciones para analizar su posible uso en diversas e interesantes aplicaciones de la medicina y la industria.

Aunque aún quedan varios años de desarrollo, las proteínas de las fibras bisales podrían emplearse en una gran diversidad de aplicaciones, desde neumáticos de automóviles hasta zapatos, o desde técnicas de reparación de huesos y dientes hasta armaduras corporales para soldados. Otros posibles usos incluyen las suturas quirúrgicas y los injertos de tendones y ligamentos artificiales.

Una categoría de fármacos del mar que parece ofrecer aplicaciones médicas prometedoras en la biotecnología acuática es la identificación de compuestos antiinflamatorios, analgésicos y antineoplásicos que se pueden emplear para tratar seres humanos. Por ejemplo, algunos investigadores han identificado una esponja del Pacífico que produce un compuesto no esteroide denominado manoalide. Esta sustancia posee propiedades antinflamatorias y analgésicas, y ya se están realizando pruebas clínicas sobre humanos. Se ha aislado alrededor de una docena de compuestos antineoplásicos a partir de invertebrados marinos, en especial, esponjas de mar, tunicados y moluscos. Muchos de estos compuestos se encuentran en diversas fases de pruebas clínicas que es probable que den lugar a nuevos y eficaces fármacos en el mercado. Varios grupos de investigadores estudian criaturas marinas venenosas con la intención de identificar sustancias que se puedan emplear para tratar trastornos del sistema nervioso.

Los caracoles cónicos, una especie potencialmente letal, producen conotoxinas, que son moléculas que pueden dirigirse a receptores de neurotransmisores específicos del sistema nervioso. En 2004, la FDA aprobó el fármaco Prialt, una conotoxina peptídica purificada procedente del caracol cónico *Conus magus* por la empresa Elan Corporation de Irlanda. Las conotoxinas como Prialt representan una prometedora fuente de neurotoxinas con capacidad para actuar como potentes analgésicos, bloqueando las vías neurales que transmiten las señales de dolor al cerebro. Prialt se ha empleado con éxito para el tratamiento de dolores crónicos y agudos como el dolor de espalda.

Los investigadores también están estudiando los componentes antiinflamatorios detectados en fragmentos de coral. Dichos compuestos pueden permitir la elaboración de nuevas estrategias de tratamiento para irritaciones cutáneas y procesos inflamatorios como el asma y la artritis. En la Tabla 10.4, se indican ejemplos de compuestos médicos aislados a partir de organismos acuáticos.

Otros investigadores desarrollan sistemas de cultivo de organismos marinos como el plancton unicelular, llamado dinoflagelado, que tiene propiedades antitumorales y para el tratamiento del cáncer. Hace poco, se descubrió que un invertebrado marino, llamado *Bagula neritina,* contiene cantidades infinitesimales de un compuesto que resulta útil en el tratamiento de determinados tipos de leucemia.

Como harán falta grandes cantidades de este compuesto para realizar estudios, es importante desarrollar

Tabla 10.4 EJEMPLOS DE COMPUESTOS MÉDICOS PROCEDENTES DE ORGANISMOS ACUÁTICOS

Organismo	Producto médico	Aplicación
Caracol cónico marino *(Conus magus)*	Prialt (ziconotida)	Toxina peptídica sintética empleada como analgésico para tratar artritis crónicas con dolor agudo.
Pez martillo *(Sphyrna lewini)*	Neovastat	Compuesto antiangiogénico (bloquea la formación de vasos sanguíneos). Empleado para tratar el cáncer.
Rana africana de uñas *(Xenopus laevis)*	Magaininas	Péptidos antimicrobianos descubiertos por primera vez en la piel de las ranas. Empleados para el tratamiento de infecciones bacterianas.
Salmón coho *(Oncorhynchus kisutch)*	Calcitonina	Hormona que estimula la absorción de calcio por parte de los osteocitos. Empleada para tratar la osteoporosis.
Sanguijuela medicinal *(Hirudo medicinalis)*	Hirudina	Péptido procedente de la saliva de las sanguijuelas empleado como anticoagulante para licuar la sangre.

técnicas de clonación de este compuesto para producirlo de forma masiva.

Asimismo, el pez globo japonés *(Fugu rubripes)* ha sido objeto de estudio recientemente. El *fugu* es famoso por su capacidad de tragar agua e «hincharse» cuando se siente amenazado, así como de producir una potente neurotoxina llamada tetrodotoxina (TTX). La TTX es uno de los venenos más tóxicos que se han descubierto (casi 10.000 veces más letal que el cianuro). Hollywood ha empleado el *fugu* en diversas películas, aprovechándose de su capacidad para producir esta mortal toxina. En Japón, el *fugu* es un plato exquisito y exclusivo para muchos amantes del *sushi*, que disfrutan de la calidad de la carne de este delicioso pez, a pesar del riesgo (la ingesta de *fugu* causa la muerte de casi 100 personas al año, sobre todo en Japón).

Los científicos han empleado la TTX para estudiar cómo las proteínas denominadas canales de sodio permiten a las neuronas la emisión de impulsos eléctricos. La TTX es un veneno mortal que bloquea los canales de sodio e impide la transmisión de impulsos nerviosos. El análisis de cómo la TTX afecta a los canales de sodio ha permitido el desarrollo de nuevos fármacos que se están probando como anestésicos para tratar a pacientes con diferentes tipos de dolores crónicos, y también como agentes antineoplásicos en humanos (Figura 10.14). Los investigadores también trabajan para obtener la secuencia del genoma del pez globo, que contiene casi el mismo número de genes que los seres humanos, pero con un genoma mucho más pequeño. El *fugu* también contiene mucho menos DNA no codificante (intrones) que los humanos, por lo que se le considera un organismo modelo ideal para el estudio de la importancia de los intrones.

Un esteroide llamado escalamina, identificado por primera vez en las mielgas *(Squalus acanthias)*, parece ser un potente fungicida que se puede emplear para tratar infecciones por hongos que ponen en riesgo la vida de pacientes que padecen sida y cáncer. Los tiburones no suelen padecer cáncer y sus cartílagos han resultado ser una rica fuente de agentes antineoplásicos. Aunque ningún componente del cartílago del tiburón ha demostrado una eficacia en las pruebas clínicas controladas, los extractos de cartílago de tiburón poseen componentes antiangiogénicos. La **angiogénesis** es la formación de vasos sanguíneos, un proceso que suele ser necesario para el crecimiento y el desarrollo de muchos tipos de tumores. Al impedir la formación de vasos sanguíneos, los componentes antiangiogénicos procedentes de especies marinas podrían inhibir el crecimiento de determinados tumores. Además, como muchos organismos acuáticos viven en entornos duros, los científicos esperan que podamos aprender algo de las adaptaciones que han desarrollado dichos organismos. Por ejemplo, los investigadores están estudiando organismos marinos que presentan una tolerancia a la luz ultravioleta como posible fuente de filtros solares naturales.



Figura 10.14 Los peces globo ayudan a los científicos a descubrir nuevos métodos para el tratamiento del cáncer y del dolor crónico en humanos

Incluso los caparazones de cangrejos desechados por el sector comercial tienen su función en las aplicaciones médicas de la biotecnología acuática. El esqueleto exterior, o exoesqueleto, de los phylum Arthropoda (que incluye cangrejos, langostas, camarones, insectos y arañas) es una rica fuente de **quitina** y **chitosán.** Estos hidratos de carbono complejos poseen una estructura parecida a

la de la celulosa, que forma la dura capa exterior de las paredes celulares de las plantas. La celulosa se conoce popularmente cono una fuente de fibra alimentaria. La quitina y el chitosán también son fuentes de fibra. La ingesta de vegetales y frutas para consumir fibra es más suave para el tracto digestivo que comer caparazones de cangrejo. No obstante, en muchas tiendas se pueden adquirir extractos de caparazones de cangrejo pulverizados. Muchas cremas hidratantes y lentes de contacto contienen quitina, que también se emplea para hacer suturas disolventes no alérgicas que parecen estimular la cicatrización al emplearse en seres humanos.

Hasta la fecha, muy pocos fármacos marinos han alcanzado un uso generalizado en el sector médico. Sin embargo, en un futuro, las tecnologías de DNA recombinante darán lugar a mayores posibilidades de producción de grandes cantidades de componentes bioactivos que se suelen detectar en muy bajas concentraciones en los organismos acuáticos. Como comentaremos en la sección siguiente, una de las aplicaciones médicas más exitosas de la biotecnología acuática ha sido el empleo de organismos acuáticos para el control de la salud y las enfermedades.

Control de la salud y de las enfermedades de los seres humanos

A principios de la primavera y durante el verano, en muchas playas de la costa este de Estados Unidos se ha repetido una misma situación desde hace décadas. Grandes cantidades de cangrejos de herradura *(Limulus polyphemus)* invaden las pequeñas bahías para aparearse (observa la fotografía del inicio del capítulo). Los cangrejos de herradura aparecieron en la tierra antes que los dinosaurios. De algún modo, estos «fósiles vivientes» han cambiado muy poco desde su aparición hace más de 300 millones de años.

Los *L. polyphemus* fueron uno de los primeros organismos marinos empleados con éxito en aplicaciones médicas. A principios de la década de 1950, se descubrió que la sangre de los cangrejos de herradura contiene células que aniquilan las bacterias invasoras. A raíz de esta sencilla observación, se desarrolló una potente aplicación médica de biotecnología marina. La prueba de **lisado de amebocitos de Limulus (LAL)** es un extracto de células sanguíneas (amebocitos) del cangrejo de herradura empleada para detectar **endotoxinas** bacterianas. Las endotoxinas, también denominadas lipopolisacáridos, forman parte de la protección exterior de las células de muchas bacterias, como la *E. coli* y la *Salmonella.* Las endotoxinas son un tipo de citotoxinas, que son moléculas tóxicas para las células. Las endotoxinas pueden producir la muerte instantánea de muchas células desarrolladas en cultivos. En seres humanos, la exposición a endotoxinas de determinadas bacterias puede provocar síntomas leves, como dolor articular, inflamación y fiebre, pero también puede provocar reacciones más graves, como una apoplejía. Algunas endotoxinas pueden ser letales.

Los investigadores han descubierto que la sangre del cangrejo de herradura coagula al exponerse a *E. coli* completa o a sus endotoxinas purificadas. Más tarde, se determinó que los amebocitos (similares a los glóbulos blancos humanos) de la sangre del cangrejo de herradura se podían lisar, centrifugar y secar por congelación para obtener un lisado que se pudiera emplear en una prueba de LAL. La prueba de LAL es una valoración rápida y muy eficaz de endotoxinas en muestras de sangre y fluidos humanos que también se emplea para garantizar que no haya citotoxinas en fármacos biotecnológicos como las proteínas terapéuticas recombinantes. También se emplea para detectar bacterias en carne de vacuno y en leche sin procesar. Además, muchas empresas médicas y hospitales emplean la prueba de LAL para asegurarse de que no hay endotoxinas en el instrumental médico, las agujas empleadas para las extracciones de sangre y líquido cefalorraquídeo, y los dispositivos implantados, como los marcapasos. La prueba de LAL es un importante ejemplo de la potencia de la biotecnología marina para provecho humano.

Se están desarrollando diversos estudios parecidos al de la prueba de LAL. Varios de los productos médicos descritos en esta sección se identificaron durante el estudio de organismos acuáticos con el objetivo de desarrollar productos no relacionados con la medicina. En la sección siguiente veremos algunos de estos productos.

10.5 Productos no relacionados con la medicina

En este capítulo hemos examinado una amplia gama de aplicaciones de biotecnología acuática. Para apreciar con más detalle el potencial de nuestras aguas, vamos a describir algunos productos acuáticos, desde reactivos para la investigación hasta suplementos alimentarios, que han influido en el sector de la biotecnología.

Una combinación de productos

En el Capítulo 3 comentamos la importancia de la *Taq* polimerasa, aislada a partir de la Archaea de fuentes calientes *Thermus aquaticus,* que permitió el desarrollo de la PCR como potente herramienta en la biología molecular. El océano también ha demostrado ser una excelente fuente de enzimas y otros productos que han desempeñado un papel importante en las investigaciones básicas y aplicadas. Por ejemplo, las bacterias que se encuentran en ventiladeros hidrotermales (géiseres de agua caliente en el fondo marino) han dado lugar a una segunda generación de enzimas termoestables para su uso en enzimas de modificación de DNA y PCR, incluidas las enzimas de restricción y las ligasas.

Otras enzimas producidas por bacterias marinas poseen diversas e interesantes propiedades que pueden dar

lugar a importantes aplicaciones en un futuro. Por ejemplo, algunas enzimas son resistentes a la sal, lo que las hace perfectas para los procedimientos de producción relacionados con soluciones de alto contenido en sal. En el Capítulo 5, comentamos la función de la bacteria bioluminiscente *Vibrio harveyi* para la detección de la contaminación ambiental. Los investigadores han descubierto especies marinas de *Vibrio* que producen determinada cantidad de proteasas, incluidas varias proteasas únicas resistentes a los detergentes empleados en muchos procesos de fabricación. Como resultado, estas proteasas resistentes a los detergentes podrían servir para degradar proteínas en los procesos de limpieza, incluido su utilización como detergente de lavandería para eliminar las manchas de proteínas en la ropa.

Vibrio también es una importante fuente de **colagenasa,** una proteasa empleada en el cultivo de tejidos. Cuando los científicos desean hacer crecer células, como en el caso de los cultivos de células hepáticas, pueden emplear colagenasa para digerir el tejido conjuntivo que mantiene unidas las células, de forma que las células sueltas puedan dispersarse en las placas de cultivo.

Otro producto marino es la **carragenina,** incluida como ingrediente en muchos alimentos en conserva, pastas de dientes y cosméticos. Este polisacárido rico en sulfatos y extraído de algas rojas se emplea en múltiples productos desde hace más de 50 años. Hay una gran variedad de polisacáridos de carragenina. Tienen la capacidad de formar geles de distinta densidad a diferentes temperaturas. Como resultado, las carrageninas se han empleado como agentes espesantes y para mejorar la textura de algunos alimentos. Algunas de las aplicaciones más comunes de las carrageninas incluyen su uso como estabilizadores y agentes de base en chicles, chocolate con leche, cervezas y vinos, aderezos para ensaladas, siropes, salsas, alimentos procesados, adhesivos, tejidos, abrillantadores y cientos de otros productos. Los productos de algas marinas tienen un largo historial de aplicaciones, y las algas marinas se han recolectado desde los albores de la humanidad.

Filipinas es el mayor productor mundial de algas rojas (Rhodophyta), de las que proceden muchas carrageninas. Las algas rojas también son apreciadas para su uso en el nori, un producto de alga muy fino empleado para enrollar el sushi. Las mejoras en el cultivo de algas han permitido lograr un aumento de la producción de otros polímeros de algas, incluido el agar y los ácidos algínicos, que son importantes elementos de investigación que se emplean respectivamente para fabricar geles de agar para la plantación de bacterias y para crear geles de agarosa para la electroforesis de DNA, tal y como se describe en el Capítulo 3.

Biomasa y bioprocesamiento

Una de las áreas que han surgido recientemente en el ámbito de la biotecnología marina es la exploración de la biomasa marina. Una maraña de hierbas de algas es biomasa, al igual que un banco de peces. Como es sabido, las plantas son responsables de la producción de oxígeno a través del proceso de fotosíntesis, en el que el dióxido de carbono y el agua se convierten en hidratos de carbono y oxígeno. Las plantas marinas (incluidas las algas, las hierbas y el plancton) emplean la fotosíntesis para capturar y transformar una gran cantidad de energía (casi el 30 por ciento de toda la producción energética mundial) solar en energía química. ¿Es posible extraer la energía química de esta biomasa? Los científicos están explorando métodos para que las algas y las plantas se puedan emplear para la producción de combustibles alternativos. Por ejemplo, tal vez sea posible aprovechar la rápida capacidad biosintética de las algas marinas –con su capacidad de producción de grandes cantidades de hidratos de carbono y lípidos– para ofrecer fuentes de materiales alternativas, cuya producción o aislamiento de materiales naturales resultan extremadamente costosos. Asimismo, se podría convertir la biomasa marina en combustible como el etanol.

El U.S. Naval Research Lab ha investigado estos posibles métodos de empleo de plancton como «células de combustible» submarinas. El plancton de la superficie acuática emite energía al realizar la fotosíntesis, mientras que el plancton situado más cerca de los sedimentos del fondo oceánico (donde hay menos oxígeno) emplea otras reacciones para generar energía. Como resultado, los científicos han descubierto que este plancton crea un gradiente de tensión natural desde la superficie hasta el fondo oceánico que se puede recoger para obtener una fuente de electricidad indefinida. En un futuro, el océano puede convertirse en un recurso valioso para la obtención de energía. Últimamente, los científicos analizan métodos para que la biomasa de las algas marinas se pueda emplear para el aumento de la absorción de dióxido de carbono y poder reducir así el efecto invernadero en el planeta.

Con respecto a las aplicaciones de la biomasa, los científicos marinos investigan métodos para que el **bioprocesamiento** pueda incluir el uso de productos marinos. El bioprocesamiento es un término genérico que describe las técnicas de ingeniería aplicadas para la producción de productos biológicos, como las proteínas recombinantes. Las algas podrían tener un gran valor para la expresión de proteínas recombinantes. Los investigadores han descubierto que pueden obtener una gran cantidad de proteínas, como anticuerpos, de las algas marinas, ya que se pueden cultivar a gran escala. Los biólogos marinos investigan cómo emplear organismos marinos para sintetizar diversos polímeros y otros biomateriales que se pueden utilizar en procesos de fabricación industrial. Por ejemplo, las proteínas de las conchas de las ostras se podrían añadir a detergentes y otros disolventes como alternativas no tóxicas y biodegradables a los productos empleados en la actualidad.

Finalizaremos este capítulo indicando las posibilidades de uso de organismos acuáticos en aplicaciones destinadas a limpiar el medio ambiente.

10.6 Aplicaciones medioambientales de la biotecnología acuática

Por desgracia, los océanos han sido durante mucho tiempo el lugar donde se han vertido los desechos de los seres humanos y las industrias, sin pensar demasiado en el efecto de la contaminación en las reservas de peces, los organismos marinos y el medio ambiente. Es evidente que los océanos no tienen una capacidad ilimitada para admitir los vertidos sin sentir las consecuencias, y podemos percibir estas consecuencias en pantanos y estuarios (que son hábitats muy importantes para el desove de muchas especies marinas y para el crecimiento de los especímenes jóvenes), que muestran signos de gran degradación debido a la contaminación y al impacto del ser humano.

En los Capítulos 5 y 9, describimos los usos de las bacterias para detectar y degradar contaminantes medioambientales. Se han empleado muchos microorganismos para limpiar los ecosistemas acuáticos. En esta sección, indicamos cómo se pueden emplear organismos acuáticos para ayudar en la limpieza y el control de la contaminación en los entornos que habitan.

Agentes contra incrustaciones

Las **biopelículas,** también conocidas como bioincrustaciones, hacen referencia a la adherencia de organismos en diversas superficies. Estas superficies pueden ser superficies fabricadas, como los casos de los barcos, la capa interna de las tuberías, muros de cemento y amontonamientos empleados en torno a muelles, puentes y edificios. Las biopelículas también se producen en la superficie de organismos marinos, especialmente mariscos. Si has pasado algo de tiempo en diques marinos y en muelles situados en entornos marinos, seguro que has observado los efectos de las biopelículas en las estructuras sumergidas en el agua.

En los entornos marinos, las lapas, las algas, los mejillones, las almejas y las bacterias son algunos de los organismos más comunes responsables de la creación de biopelículas (Figura 10.15). Como indica el término *biopelícula,* estos organismos crecen para crear, literalmente, una capa o, habitualmente, varias capas que forman una «película» sobre las superficies a las que se adhieren. Sin embargo, la creación de biopelículas no es un problema exclusivo del ámbito marino. Se producen fenómenos similares de creación de biopelículas en las cañerías de las casas, en las lentes de contacto y en la boca. Las bacterias que recubren los dientes y las bacterias que se adhieren a dispositivos implantados quirúrgicamente y a prótesis son ejemplos de creación de biopelículas. Aunque la limpieza regular de los dientes minimiza la creación de biopelículas en la boca, estos sencillos remedios no son posibles a la hora de impedir la creación de biopelículas en entornos marinos.

La creación de biopelículas puede dar lugar a importantes problemas. Por ejemplo, la adherencia de organismos marinos al casco de un navío puede aumentar la resistencia del barco a medida que se desplaza por el agua, reduciendo así su velocidad y la eficacia del combustible. La acumulación progresiva de biopelículas puede atascar tuberías, bloquear la toma de agua y los sistemas de filtración de los barcos, así como corroer superficies de metal. Además, la colonización de superficies por parte de invertebrados y moluscos crea bioincrustaciones «duras» que resultan difíciles y costosas de eliminar (Figura 10.15).

Tradicionalmente, la mayoría de los agentes contra incrustaciones emplea agentes químicos tóxicos, como pinturas con alto contenido en cobre y mercurio, para minimizar el crecimiento de los organismos que se incrustan. Sin embargo, los metales recubiertos con dichas pinturas pueden contribuir a la contaminación medioambiental.

(a)



(b)



Figura 10.15 Los invasores no deseados crean biopelículas que tienen un importante impacto económico (a) El crecimiento incontrolado de especies no deseadas, como los mejillones cebra, supone muchos problemas. (b) Los mejillones, las lapas y otros organismos pueden crear biopelículas muy resistentes.

Por ello, los investigadores estudian los mecanismos naturales que emplean muchos organismos para evitar las bioincrustaciones en sus propias superficies. Si las biopelículas son un problema tanto para las superficies fabricadas como para las superficies de los organismos marinos, ¿qué hacen las almejas, los mejillones e, incluso, las tortugas para minimizar la creación de biopelículas y, por lo tanto, evitar que sus caparazones queden completamente cubiertos por organismos que crean biopelículas? Los científicos emplean técnicas moleculares para encontrar la solución. Se cree que algunos organismos producen sustancias repelentes; otros organismos parecen producir moléculas que bloquean la adhesión de organismos de creación de biopelículas (Figura 10.16). Muchas hierbas marinas, como la *Zostra marina,* y algas producen compuestos que neutralizan o impiden la adherencia de bacterias, hongos y algas. En un futuro próximo, estos compuestos podrán emplearse para la fabricación de cubiertas protectoras para recubrir cascos de barcos, equipos de acuicultura y otras superficies que podrían quedar cubiertas por biopelículas.

La lucha contra las biopelículas incluye el control del crecimiento de organismos marinos. Asimismo, los biotecnólogos marinos están muy interesados en los métodos que emplean organismos marinos para detectar y controlar fuentes de contaminación química en el entorno como paso inicial para desarrollar métodos de control y eliminación de la contaminación.

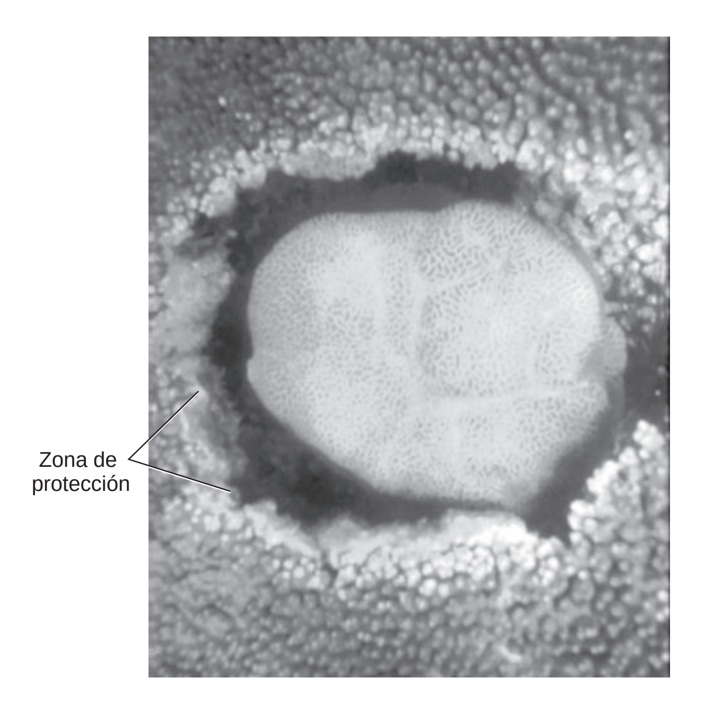


Figura 10.16 Muchos organismos marinos cuentan con mecanismos naturales contra las incrustaciones Muchos organismos marinos liberan sustancias químicas de defensa para crear una zona de protección (señalizada por la banda oscura alrededor de este coral) a su alrededor. Estas sustancias químicas impiden que los microorganismos se incrusten y protegen al organismo contra los depredadores.

Biosensores

Muchos equipos trabajan para investigar el uso de organismos acuáticos como biosensores para detectar bajas concentraciones de contaminantes y toxinas en vías fluviales. En el Capítulo 5 comentamos cómo se podían emplear como sensores las variedades de bacterias bioluminiscentes. Algunas especies emplean la bioluminiscencia para alumbrar su entorno, mientras que otras la emplean para aparearse en las oscuras profundidades del océano. La mayor parte de los peces bioluminiscentes de las profundidades marinas mantienen relaciones simbióticas con bacterias bioluminiscentes como *Vibrio fischeri.*

V. fischeri y otras variedades bioluminiscentes como *V. harveyi* presentan genes *lux,* responsables de la codificación de la enzima luciferasa, emisora de luz. En respuesta a las continuamente cambiantes condiciones ambientales, la intensidad de la luz emitida por *Vibrio* puede variar. Debido a esta capacidad, *Vibrio* se ha empleado como biosensor para detectar elementos contaminantes (sustancias químicas orgánicas y compuestos que contienen nitrógeno, entre otros) en entornos marinos.

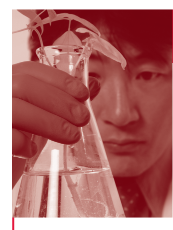
Algunos organismos marinos son útiles para la detección de contaminantes medioambientales, pero, además, muchas especies marinas también podrían poseer rutas metabólicas para degradar determinadas sustancias, tanto naturales como fabricadas. Gran parte de las investigaciones tienen como objetivo detectar las rutas bioquímicas que intervienen en los procesos de degradación para determinar cómo emplear organismos marinos con el fin de recuperar o limpiar el medio ambiente de diversas sustancias peligrosas que se encuentran en el entorno marino.

Recuperación medioambiental

Recordemos lo comentado en los Capítulos 5 y 9 sobre cómo se han empleado organismos nativos o variedades modificadas genéticamente para degradar productos químicos. De igual modo, los organismos marinos poseen mecanismos únicos para descomponer sustancias, incluidas toxinas químicas orgánicas (como los fenoles y el tolueno), productos oleaginosos presentes en puertos y junto a plataformas petrolíferas, así como metales tóxicos.

Una de las técnicas más recientes empleadas en la recuperación marina incluye el aumento del marisco en las zonas contaminadas. Los científicos han introducido soportes de marisco en aguas contaminadas para aprovechar el método de alimentación natural de bivalvos como almejas, ostras y mejillones. Como estos organismos filtran el agua, actúan como filtros de tipo estuario para eliminar desechos como compuestos de nitrógeno y sustancias químicas orgánicas. Estas sustancias químicas, a su vez, se absorben en los tejidos de los mariscos. Tras cierto tiempo, estos moluscos se pueden recoger, eliminando así los desechos del agua.

La contaminación por metales pesados de las aguas marinas es el resultado de muchos procesos de fabrica-



PERFIL PROFESIONAL

Profesiones relacionadas con la acuicultura

La acuicultura ofrece una amplia variedad de interesantes oportunidades profesionales. Alrededor de 36 millones de personas de todo el mundo tienen un trabajo relacionado con la acuicultura. Aquellas personas que acceden a puestos técnicos mantienen las condiciones ambientales adecuadas para las especies que se cultivan, suministran alimentos o nutrientes y se deshacen de los materiales de desecho o de los alimentos sobrantes. Aunque cada vez se utilice más el control informático de varios sistemas, no se puede subestimar la inspección visual de los organismos cultivados (la «cosecha»). Por ejemplo, determinados cambios en los patrones de crecimiento, la alimentación o el comportamiento pueden permitir predecir problemas que deberán solucionarse. No obstante, la realización de procesos manuales suele ser parte importante del trabajo. Es posible que incluso el encargado de las instalaciones y el director deban encargarse, de vez en cuando, del agua o de los materiales de desecho; es parte del negocio.

Existen muchas posibles ramas profesionales dentro de la acuicultura. Los ingenieros diseñan sistemas de producción de acuicultura. Los biólogos y los científicos especializados en nutrición desarrollan alimentos para conseguir un crecimiento óptimo. Los genetistas especializados en plantas o animales elaboran nuevos híbridos de las especies actualmente cultivadas que pueden crecer con mayor rapidez, son más resistentes o presentan características más apropiadas para la venta. Los veterinarios deben prestar ayuda a peces enfermos y lograr que recuperen la salud. En la acuicultura también existen oportunidades en puestos de ventas, ya que alguien tiene que vender el producto final. Si el producto cultivado no se vende con beneficios, se desperdiciarán importantes esfuerzos.

Aquellas personas que se introduzcan en el sector de la acuicultura en puestos técnicos deben contar con experiencia en la cría de animales o en el ámbito de la ciencia. Existe una cantidad limitada de puestos para titulados universitarios, pero la mayoría de los empresarios desean contratar a una persona motivada con, al menos, un título de grado medio. Se prefiere que el candidato posea una licenciatura en ciencias biológicas y experiencia en centros de acuicultura. Aquellas personas que deseen participar en investigación deberán poseer, al menos, un master o un doctorado. La experiencia es uno de los mejores métodos de aprendizaje, así que todos aquellos que tienen especial interés en la cría de peces o plantas deben tratar de adquirir experiencia donde sea posible. Además, si hay una cosa con la que se familiarizan todos los trabajadores de acuicultura, esa es la fontanería. Si tiene la oportunidad de realizar alguna vez un curso de fontanería, hágalo. Resulta primordial adquirir conocimientos sobre bombas de aire y de agua, así como sobre hidrodinámica básica, ya que forma parte inherente de la acuicultura.

Los peces y las plantas son seres vivos. Si no se los cuida, mueren. Por lo tanto, es necesario controlar el suministro de agua a diario, varias veces al día. Hay que alimentar a los peces, eliminar los residuos, controlar y ajustar los niveles de oxígeno y nitrógeno, eliminar a los depredadores y evaluar el estado general del sistema. Sin alguien que controle y mantenga el cultivo, el proceso no será correcto, cosa que sucederá con mucha rapidez en la mayoría de los casos.

Las condiciones de trabajo varían porque la acuicultura no se realiza en un determinado tipo de emplazamiento. Los peces y el marisco pueden cultivarse en climas fríos o muy cálidos. Las especies pueden crecer en el interior o en el exterior, y las plantas suelen cultivarse en invernaderos. Las condiciones de trabajo pueden resultar húmedas, pero suelen ser bastante cómodas, excepto en el caso de los cultivos de salmón en recintos, en cuyo caso puede ser necesario que una persona se introduzca en el recinto flotante a temperaturas muy bajas para quitar el hielo de la estructura.

Los sueldos en el ámbito de la acuicultura, como en la mayoría de las ciencias agrarias, se quedan atrás con respecto a las demás áreas de la biotecnología. Aquellos que se adentran en el negocio de la acuicultura deben enfrentarse a los mismos retos salariales que los granjeros, que deben esperar dos o tres años antes de poder vender sus productos. Sin embargo, la interacción con los animales y la libertad de trabajar en entornos abiertos y espectaculares es muy atrayente. La gente adquiere un interés especial por los peces o mariscos que cultiva, y desarrolla una sensación de propiedad y orgullo. Lo mismo se puede decir sobre el cultivo de plantas ornamentales.

Las perspectivas del mercado de trabajo de la acuicultura son buenas, ya que cada vez más gente consume pescado. Los océanos del planeta sólo pueden producir una cantidad determinada de peces y mariscos, así que la acuicultura tendrá que cubrir la creciente demanda. Este sector de la agricultura y la biotecnología aumentará en un futuro, al igual que lo harán todos los trabajos relacionados con él. No olvides visitar la sección sobre el desarrollo profesional en el sector marino de la página web de Sea Grant que se encuentra en el sitio web adjunto, ya que es un importante recurso para la información profesional sobre la acuicultura y muchas otras áreas de la biotecnología acuática.

Con la contribución de Gef Flimlin, Rutgers Cooperative Extension, Toms River, Nueva Jersey (EE. UU.).

ción industrial. Como solución al problema, los científicos han aislado bacterias marinas que oxidan metales como el hierro, el manganeso, el níquel y el cobalto. Algunas de estas bacterias también pueden emplearse para extraer importantes metales de minerales pobres. Además, algunas bacterias marinas y algas unicelulares presentan metalotioneínas, que pertenecen a la familia de las proteínas de fijación de metales. Estas especies prosperan en aguas contaminadas con cadmio y otros metales pesados, en los que limpian literalmente el cadmio del entorno y, a continuación, degradan los metales tóxicos y los descomponen en subproductos menos dañinos. Los científicos investigan métodos para emplear estos organismos para extraer, recuperar y reciclar importantes y

valiosos metales como el oro y la plata de procesos de fabricación.

Muchos organismos marinos producen sustancias que resultan valiosas para la degradación y el procesamiento de diversos materiales de desecho. Al emplear organismos acuáticos en sus productos, es posible estimular la degradación de desechos en entornos naturales o en biorreactores sembrados de estos organismos de un modo muy similar al de las plantas de tratamiento de aguas residuales, que emplean bacterias para degradar los residuos fecales. Por ejemplo, los microbiólogos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos han experimentado con el cultivo de algas que metabolizan el nitrógeno en grandes esteras que pueden emplearse como filtros naturales. Estas esteras funcionan como los filtros de carbón de los acuarios, ya que capturan los residuos de nitrógeno. El agua contaminada con residuos de los animales cultivados se hace pasar por estos filtros y las algas absorben y metabolizan los desechos. Estos desechos ofrecen nutrientes para las algas, que crecen hasta formar espesas matas. Las algas se recolectan de forma periódica mediante cortes, pero se permite que vuelvan a crecer, como se hace con el césped. El agua que se ha limpiado de este modo se emplea para el riego, y algunas de las algas recolectadas se emplea como alimento para el ganado. En Florida, se han realizado experimentos parecidos con jacintos acuáticos para limpiar aguas ricas en fósforo, nitrógeno y otros nutrientes.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. Describe las diferencias entre peces transgénicos y triploides y comenta cómo se puede obtener cada tipo de pez modificado genéticamente.
2. Indica métodos para valorar el riesgo que suponen las especies marinas modificadas genéticamente. Considera este aspecto desde el punto de vista de los riesgos derivados del consumo de especies modificados genéticamente, así como los riesgos asociados a la introducción de estas especies en entornos naturales.
3. Escribe una lista de las ventajas y de los problemas relacionados con la acuicultura.
4. Describe el aspecto más interesante de la biotecnología acuática sobre el que has obtenido información en este capítulo. ¿Qué tema has seleccionado? ¿Por qué te ha resultado interesante?
5. Indica algunas de las propiedades de un organismo acuático que pueden resultar interesantes para los biotecnólogos acuícolas que deseen identificar nuevos compuestos que puedan ser útiles para la aplicación de la biotecnología.
6. Indica ejemplos de especies de peces y mariscos que sean importantes para la acuicultura.
7. En este capítulo nos hemos centrado en las aplicaciones de la biotecnología acuática que benefician al ser humano. Muchos biotecnólogos acuícolas están interesados en emplear la biotecnología para mejorar las poblaciones nativas de organismos acuáticos (peces o mariscos) de todo el mundo. Indica al menos tres maneras en las que puede emplearse la biotecnología para recuperar las existencias de peces.
8. El GloFish se ha comercializado como el primer pez del mundo modificado genéticamente. Aunque el GloFish no se ha diseñado para el consumo humano, muchos grupos de diverso tipo (incluidos científicos) han manifestado una gran preocupación sobre el uso de animales transgénicos. Según Yorktown Technologies, la empresa que ha creado el GloFish, la Agencia de protección del medio ambiente (EPA), el Departamento de Agricultura (USDA), el servicio estadounidense U.S. Fish and Wildlife Service y la Food and Drug Administration (FDA) han indicado que no existe ninguna necesidad por parte de ninguna de estas agencias de regular o aprobar la venta del GloFish. ¿Por qué crees que las agencias estadounidenses han decidido que no es necesario regular el GloFish? Describe las posibles razones que hacen que el GloFish levante tanta polémica. ¿Cuáles pueden ser las principales preocupaciones relacionadas con este pez?
9. ¿Qué son las biopelículas? Indica ejemplos de biopelículas en entornos acuáticos, así como en seres humanos. ¿Cómo se pueden emplear organismos acuáticos para ayudar a los científicos a luchar contra la formación de biopelículas?
10. ¿Qué es la prueba de lisado de amebocitos de Limulus (LAL)? Describe brevemente en qué consiste y cuáles son sus usos.

Bibliografía y lecturas complementarias

Devlin, R. H., Biagi, C. A., Yesaki, T. Y., et al. (2001). Growth of Domesticated Transgenic Fish. *Nature,* 409: 781–782.

Hew, C. L., and Fletcher, G. L. (2001). The Role of Aquatic Biotechnology in Aquaculture. *Aquaculture,* 197: 191–204.

Hites, R. A., Foran, J. A., Carpenter, D. O., et al. (2004). Global Assessment of Organic Contaminants in Farmed Salmon. *Science,* 303: 226–229.

Stix, G. A. (2005). Toxin Against Pain. *Scientific American,* 292: 88–93.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo **11**

Biotecnología médica

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Citar ejemplos de organismos modelo y explicar por qué son importantes.
- Describir las diferentes técnicas de cariotipo que pueden detectar anomalías cromosómicas y técnicas moleculares para los test genéticos.
- Citar ejemplos de por qué la farmacogenómica puede cambiar el número de condiciones de las enfermedades genéticas que se podrán tratar en el futuro.
- Discutir la forma en que los anticuerpos monoclonales se pueden usar para tratar enfermedades.
- Comprender el objetivo de la terapia génica, comparar y contrastar las distintas estrategias y reconocer sus limitaciones.
- Definir la medicina regenerativa y dar ejemplos de usos del trasplante de célula y tejidos y la ingeniería orgánica.
- Comprender qué son las células madre y describir cómo se aíslan. Citar ejemplos de posibles terapias que pueden desarrollarse a partir de las células madre.
- Comparar y contrastar la clonación terapéutica con la clonación reproductiva.
- Explicar brevemente la importancia del Proyecto del Genoma Humano para aprender y tratar las enfermedades genéticas.



La medicina personalizada es una de las metas de la biotecnología médica.

Hasta ahora, hemos visto ejemplos de las aplicaciones actuales de la biotecnología que ya están presentes en nuestra vida cotidiana. Asimismo, hemos hablado sobre las nuevas áreas potenciales de la biotecnología. Quizás no exista otro aspecto de la biotecnología que genere tanto optimismo y debate como la **biotecnología médica.** Durante décadas han existido aplicaciones de la biotecnología médica. Por ejemplo, hace 100 años, las sanguijuelas se utilizaban a menudo para tratar enfermedades mediante la llamada sangría. Algunos médicos pensaron que mediante el uso de sanguijuelas que chuparan la sangre del paciente, se extraían también las enfermedades del paciente. Es un momento culmen para estudiar la biotecnología médica porque se están produciendo avances sofisticados en este campo a un ritmo trepidante. De hecho, incluso se está volviendo a prestar atención a las sanguijuelas; si bien, no para realizar sangrías, sino por las enzimas que se encuentran en su saliva, la cual puede disolver los coágulos sanguíneos y posiblemente usarse para tratar derrames cerebrales y ataques al corazón.

La biotecnología médica incorpora muchos de los temas que ya hemos tratado. Desde el desarrollo de nuevos medicamentos a la posibilidad de utilizar células madre y la clonación, las posibilidades de la biotecnología médica resultan increíbles, pero también increíblemente alarmantes para mucha gente, incluidos los científicos. Las aplicaciones de la biotecnología médica afectarán al tipo de tratamiento sanitario que se recibirá en el futuro.

En este capítulo, trataremos gran variedad de aplicaciones de la biotecnología médica y discutiremos muchos de los potenciales impactos de esta área tan apasionante. Comenzaremos dando una visión general de cómo se aplican algunas técnicas de biología molecular para detectar y diagnosticar enfermedades y tomando en consideración los innovadores productos médicos desarrollados mediante la biotecnología. Después realizaremos una presentación de las aplicaciones y ejemplos de la terapia génica antes de tratar la medicina regenerativa. El capítulo concluye relacionando el Proyecto del Genoma Humano con el descubrimiento de genes de las enfermedades humanas.

11.1 El poder de la biología molecular: detección y diagnóstico de las enfermedades humanas

En el año 2003 se celebraron 50 años desde que los ganadores del premio Nobel James Watson y Francis Crick revelaron la estructura del DNA como una molécula de doble hélice. Desde entonces, la biología molecular ha avanzado a un paso agigantado, obteniendo técnicas moleculares que proporcionan a los científicos y doctores en medicina herramientas muy potentes para combatir las enfermedades humanas.

Modelos de enfermedades humanas

Muchas de las aplicaciones que aprenderás en este capítulo resultan posibles debido a los importantes **organismos modelo.** Como aprendiste en el Capítulo 7, los ratones, las ratas, los gusanos y las moscas han desempeñado un papel fundamental para ayudar a los científicos a estudiar las condiciones de las enfermedades humanas. Pensamos de nosotros mismos que no tenemos relación con otras especies por nuestra capacidad de comunicarnos mediante la palabra y la escritura, así como por andar erguidos, componer música, hacer una buena *pizza,* y explorar planetas lejanos. Sin embargo, lo cierto es que no somos tan singulares a un nivel genético. Desde la levadura y los gusanos hasta los ratones, compartimos grandes cantidades de genes con estos organismos. Por tanto, los científicos utilizan organismos modelo para identificar genes causantes de enfermedades y probar la terapia de genes y enfoques terapéuticos

PyR

P ¿Qué son los ensayos clínicos?

R Antes de que la U.S. Food and Drug Administration apruebe el uso de cualquier terapia en humanos (como un nuevo tratamiento farmacológico), la mayoría de los fármacos o estrategias de terapia se prueban con una serie de pasos rigurosos denominados ensayos clínicos. La mayoría de los ensayos clínicos se clasifican en tres fases diferentes. Por ejemplo, cuando se prueba un nuevo fármaco para tratar un cáncer, los estudios clínicos comienzan con ensayos de Fase I, que comprenden los estudios iniciales con un fármaco en un grupo reducido de pacientes voluntarios sanos. Los ensayos de la Fase I a menudo se denominan estudios de seguridad porque se utilizan para determinar si un nuevo tratamiento es seguro para los humanos, para determinar el número de dosis que se pueden administrar con seguridad y determinar la mejor vía para la administración del fármaco (oral, inyección al torrente sanguíneo, etc.). Estos estudios no suelen comprobar la efectividad de los fármacos para tratar una enfermedad. Los animales modelo suponen un primer paso fundamental antes de comenzar con los ensayos clínicos de Fase I. Si un fármaco resulta demasiado tóxico en animales, probablemente no se apruebe para los ensayos de Fase I.

En los ensayos de Fase II se evalúa la seguridad del fármaco en grupos de pacientes mayores, normalmente de unos cientos de participantes y se comprueba la efectividad del fármaco con cuidado, normalmente durante varios años.

Por último, los ensayos de Fase III estudian la efectividad del fármaco comparada con otros fármacos actuales considerados como el tratamiento estándar o el más efectivo.

Los ensayos de Fase III suelen incluir a miles de pacientes con diferentes historiales y fases de enfermedad de todo el país. Cerca de un 25 por ciento de todos los fármacos que se prueban pasan la Fase III. Aproximadamente un 80 por ciento de los fármacos de la Fase III reciben la aprobación final de la FDA.

basados en medicamentos para comprobar su eficacia y seguridad en estudios preclínicos antes de utilizarlos en **ensayos clínicos** en humanos.

Los organismos modelo resultan de gran importancia para los científicos porque no podemos manipular la genética humana a efectos experimentales. Naturalmente, resulta inmoral e ilegal obligar a los humanos a producir o eliminar sus genes para conocer cómo funcionan. Sin embargo, estos enfoques suelen utilizarse para estudiar genes en los organismos modelo. Ratones, ratas, polluelos, levadura, moscas de la fruta, gusanos, ranas, e incluso peces cebra, un pez común en los acuarios caseros, todos han desempeñado un importante papel en nuestro conocimiento de la genética humana. Numerosos genes importantes se conservan altamente de especie a especie. Si identificamos genes importantes en los organismos modelo, podemos construir hipótesis y hacer predicciones sobre la forma en que estos genes pueden funcionar en los humanos.

Se ha demostrado que muchos genes identificados en diferentes especies modelo están relacionados con los genes humanos basándose en la similitud de la secuencia del DNA. Dichos genes relacionados se denominan **homólogos.** Por ejemplo, se puede eliminar un gen sospechoso de desempeñar un papel en una enfermedad humana de un organismo modelo mediante el bloqueo de genes, tal como comentamos en el Capítulo 7. Se pueden estudiar los efectos en el organismo para conocer las funciones del gen. Por ejemplo, hace varios años los científicos descubrieron que los ratones pueden volverse obesos si carecen de un gen denominado *Ob* (Figura 11.1). El gen *Ob* codifica una hormona proteica denominada leptina que se desplaza por el torrente sanguíneo hasta el cerebro para regular el hambre. El descubrimiento posterior de un homólogo humano para la leptina ha abierto un nuevo campo de investigación con una visión del metabolismo de la grasa en los humanos y la genética que puede influir en trastornos del peso. Algunas enfermedades de la infancia relacionadas con la obesidad están provocadas por la mutación del gen *Ob*. En Inglaterra se ha tratado a los niños extremadamente obesos con leptina, y el tratamiento ha respondido muy bien en los estudios preliminares.

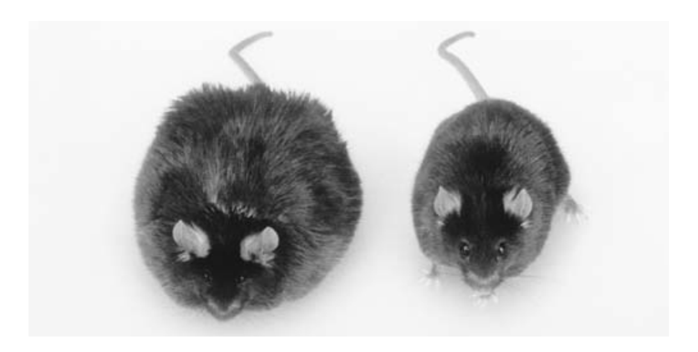


Figura 11.1 Ratones obesos Los organismos modelo resultan muy útiles para ayudar a los científicos a estudiar los genes de las enfermedades humanas. El ratón de la izquierda se ha sometido a ingeniería genética mediante bloqueo de genes para que carezca del gen de la *obesidad (Ob)*, el cual produce una proteína hormona denominada leptina, cuyo significado deriva de la palabra griega *leptos* «delgado» Las células de la grasa producen la leptina, que viaja por el torrente sanguíneo hasta el cerebro, informando al cerebro cuándo está lleno el cuerpo. El ratón con el bloqueo del gen *Ob* pesa casi cinco veces más que su hermana normal (derecha).

Antiguamente, los descubrimientos científicos más importantes en casi todos los campos de la biología, incluidas la anatomía y la fisiología, la bioquímica, la biología celular, la biología del desarrollo, la genética y la biología molecular se realizaban en primer lugar en organismos modelo y después se relacionaban con los humanos. Por ejemplo, en embriones en desarrollo, algunas células deben morir para dejar espacio a otras. ¿Cómo sabe el organismo dónde tiene que desarrollar determinados órganos y determinar qué células deben morir para dejar espacio a otras? Los estudios del nematodo *Caenorhabditis elegans* han avanzado enormemente las respuestas a estas importantes preguntas sobre el desarrollo. Se han creado mapas del *C. elegans,* que tiene 959 células, que permiten a los científicos determinar el destino o el linaje de todas las células del gusano embrionario que se desarrollan para formar el sistema nervioso, el intestino y otros tejidos del gusano. De estas células, 131 están destinadas a morir en forma de suicidio celular conocido como muerte celular programada o **apoptosis.** Durante el desarrollo de un embrión humano, las capas de las células de la piel crean redes entre los dedos de las manos y los de los pies; la apoptosis es la responsable de la degeneración de estas redes antes del nacimiento. Además, la apoptosis resulta importante de otras formas. Sabemos que la apoptosis está relacionada con las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig) y la enfermedad de Parkinson, así como la artritis y algunas formas de infertilidad. Los organismos modelo nos ayudarán a comprender mejor los genes involucrados y ralentizar o detener los procesos degenerativos.

Ya hemos visto que uno de los objetivos del Proyecto del Genoma Humano consistía en conseguir un mejor entendimiento de similitudes genéticas y diferencias entre humanos y otras especies, especialmente otros mamíferos. El Proyecto del Genoma Humano y los estudios genómicos comparativos han demostrado claramente que compartimos gran cantidad de genes con otros organismos. Cientos de genes humanos guardan relación con genes bacterianos, lo que proporciona sólidas pruebas de la evolución de los genes de bacterias a otros organismos más complejos. ¿Puedes creer que compartimos cerca del 50 por ciento de nuestros genes con las molestas moscas de la fruta que llevas a casa desde la frutería? Puede resultar difícil creer que sólo se necesita cerca del doble de genes para hacer un humano de los que se necesitan para hacer una mosca de la fruta. Plantas como la del arroz tienen incluso más genes que nosotros. Compartimos cerca de un 40 por ciento de nuestros genes con los nematodos y el 31 por ciento con la levadura (la misma levadura que usamos para hacer pan de arroz y fermentar

las bebidas alcohólicas). Compartimos incluso más genes con los ratones; aproximadamente un 90 por ciento de nuestros genes son similares en estructura y funciones.

Muchos de los genes que determinan nuestro esquema corporal, el desarrollo de los órganos y finalmente nuestro envejecimiento y muerte son prácticamente idénticos a los genes de las moscas de la fruta. Además, los genes mutados conocidos por provocar enfermedades en los humanos también provocan enfermedades en las moscas de la fruta. Cerca del 61 por ciento de los genes mutados en 289 enfermedades humanas se encuentran en la mosca de la fruta. En este grupo se incluyen los genes causantes de cáncer de próstata, cáncer pancreático, fibrosis quística, leucemia y otros muchos trastornos genéticos. Las cardiopatías son otro ejemplo de enfermedades que los científicos estudian en organismos modelo. Cerca de un millón de personas muere cada año en Estados Unidos a consecuencia del infarto de miocardio. Los investigadores están utilizando bloqueos genéticos para desarrollar los llamados ratones del infarto que carecen de los genes necesarios para el metabolismo del colesterol. Esperan que estos ratones muestren elevados niveles de colesterol en sangre, semejantes a los que se detectan en la arteriosclerosis (endurecimiento de las arterias) de forma que puedan probar las terapias para combatir las cardiopatías.

Por último, los científicos llevan 20 años buscando una cura para el sida. Los investigadores del sida consideran prioritario crear un pequeño animal modelo para esta enfermedad. Además de en los humanos, el HIV y los virus relacionados causan enfermedades en primates como los chimpancés y los macacos Rhesus, aunque estos animales resultan muy caros. Cada uno de estos animales puede costar más de 35.000 euros y sólo están disponibles en número limitado. Los investigadores están avanzando lenta pero progresivamente hacia el desarrollo de modelos de roedores infectados con HIV. Incluso si se crean estos animales, no existen garantías de que su enfermedad imite de forma adecuada el sida humano. En los humanos, el HIV infecta y destruye los linfocitos T (células T). Uno de los principales impedimentos de los modelos de roedores consiste en que el HIV no reconoce ni se vincula a las proteínas receptoras en las células T de los ratones. Sin embargo, los científicos podrían ser capaces de expresar proteínas de las células T humanas en ratones para engañar al virus de forma que infecte a los ratones.

Biomarcadores para la detección de enfermedades

En teoría, con las herramientas de diagnóstico correctas es posible detectar la mayoría de las enfermedades en una fase temprana. En el caso de muchas enfermedades, como el cáncer, la detección temprana resulta fundamental para proporcionar el mejor tratamiento y aumentar las probabilidades de supervivencia. Un método de detección debe buscar **biomarcadores** como indicadores de la enfermedad. Los biomarcadores son proteínas producidas por el tejido enfermo o proteínas cuya producción aumenta cuando un tejido está enfermo. Se liberan numerosos biomarcadores a los fluidos corporales como la sangre y la orina como resultado del daño celular (liberados por células muertas y en proceso de muerte, como las células que sufren apoptosis). Por ejemplo, una proteína denominada **antígeno prostático específico (PSA)** se libera al torrente sanguíneo cuando la glándula prostática se inflama, y tener niveles elevados puede ser un marcador de la inflamación prostática e incluso del cáncer de próstata. La detección de genes individuales o de patrones de expresión génica también proporciona biomarcadores de las enfermedades a los científicos (véase la Figura 11.8 más adelante) y muchas compañías de biotecnología están buscando mejores biomarcadores que se puedan utilizar para realizar detecciones tempranas y diagnosticar enfermedades.

Detección de enfermedades genéticas

Las técnicas de biología molecular han demostrado ser extremadamente valiosas para detectar numerosas enfermedades genéticas diferentes.

Comprobación de anomalías cromosómicas y genes defectuosos

Hasta hace relativamente poco, la mayoría de las pruebas genéticas se realizaban en fetos, a efectos de identificar el sexo o de detectar ciertas enfermedades genéticas. La mayoría de estos procedimientos comprendían las pruebas en busca de enfermedades que se producen como resultado de alteraciones en el número de cromosomas. Si existen problemas con la separación de cromosomas durante la formación de células de esperma u óvulos, un feto puede contener una cantidad anormal de cromosomas. Uno de los ejemplos más conocidos de trastorno debido a una alteración del número de cromosomas es el **síndrome de Down.** La mayoría de los individuos afectados presentan tres copias del cromosoma 21 (trisomía 21), y muestran una serie de peculiaridades características, entre las que se encuentran retraso mental, baja estatura y rasgos faciales ensanchados. Recientemente los científicos han desarrollado una raza de ratones con una copia casi al completo del cromosoma 21 humano. Estos ratones presentan características del síndrome de Down y podrían constituir un modelo muy valioso para la comprensión genética de esta enfermedad.

La prueba en fetos para el síndrome de Down es bastante común, especialmente en mujeres embarazadas mayores de 40 años, dado que la incidencia del síndrome de Down está relacionada con la edad de los óvulos producidos por la mujer. La trisomía 21 y otras anomalías en el número de cromosomas se pueden detectar en un feto para que a los padres decidan si desean continuar con el embarazo. Si se detecta una malformación, las pruebas genéticas también proporcionan información que se puede utilizar para tratar los fetos durante el embarazo y después del nacimiento del bebé.

Entonces, ¿cómo se comprueba si un feto en desarrollo presenta síndrome de Down? Se pueden utilizar dos técni-

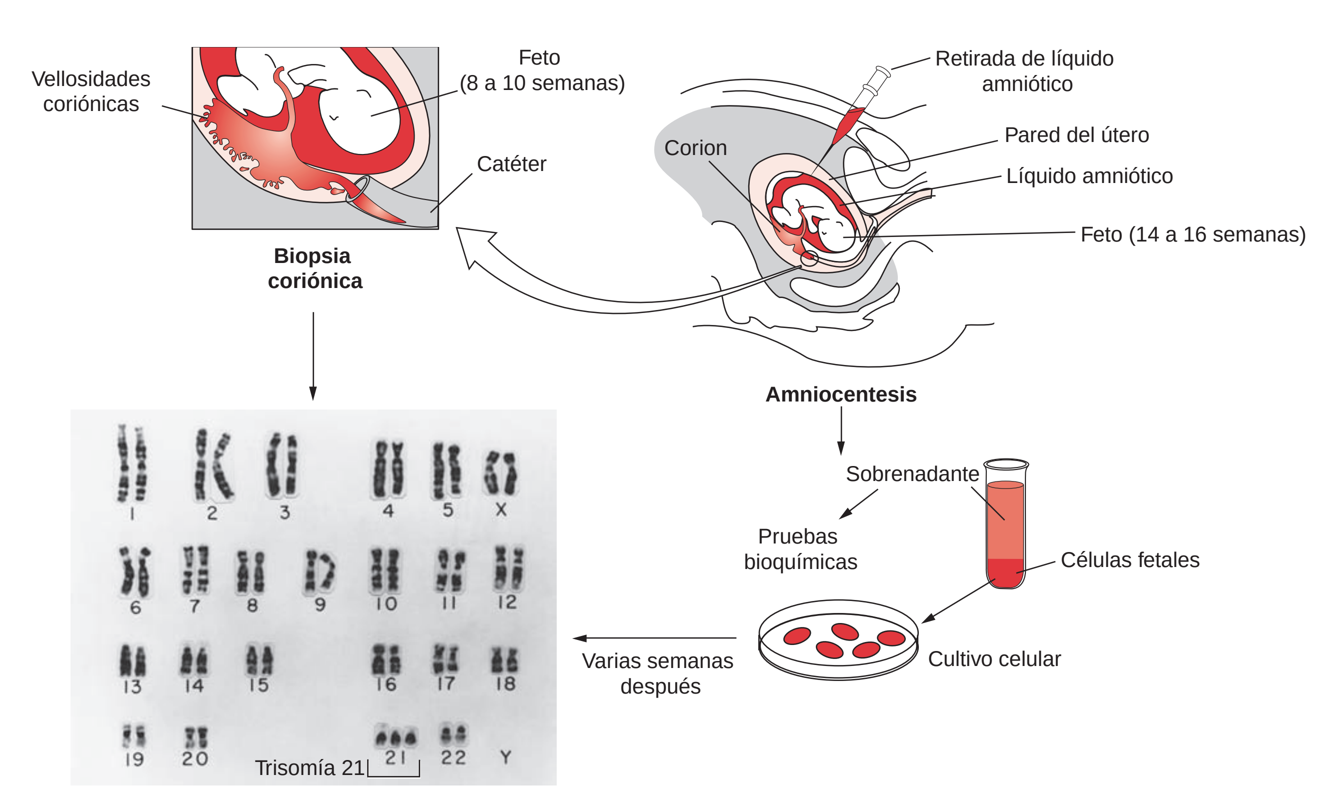


Figura 11.2 Amniocentesis y biopsia coriónica Las formas más habituales de obtener pruebas fetales en busca de anomalías cromosómicas son la amniocentesis y la biopsia coriónica. Este cariotipo de una persona con síndrome de Down muestra tres copias del cromosoma 21 (trisomía 21).

cas distintas: la **amniocentesis** y la **biopsia coriónica.** La amniocentesis se realiza cuando el feto en desarrollo tiene cerca de 16 semanas de edad. Se introduce una aguja a través del abdomen de la madre en la bolsa del líquido amniótico que rodea y protege al feto (Figura 11.2). Este líquido contiene células desechadas por el feto como las células de la piel. Las células aisladas se cultivan durante un par de días para aumentar su número y después se tratan para que liberen los cromosomas, que se esparcen por una muestra de cristal. Los cromosomas se marcan con diferentes colorantes que se unen a las proteínas adjuntas al DNA, creando patrones de bandas claras y oscuras alternativas en cada cromosoma. En función de su tamaño y de su patrón de tinción, resulta relativamente fácil alinear todos los cromosomas por pares y contar el número de cromosomas. Recuerda del Capítulo 2 que esta técnica se denomina **cariotipo.** Asimismo, los cariotipos se utilizan para determinar el sexo de un bebé en función de la presencia de los cromosomas del sexo (X e Y).

La biopsia coriónica (CVS) también se puede utilizar para las pruebas de los fetos (Figura 11.2). Durante este procedimiento se utiliza un tubo de succión para extraer una pequeña porción de una capa de células denominada vellosidades coriónicas, tejido fetal que ayuda a formar la placenta. Una ventaja de la CVS respecto de la amniocentesis reside en que se obtienen suficientes células, de modo que la muestra se puede utilizar de modo inmediata para el cariotipo. Otra ventaja de la CVS es que el procedimiento se puede realizar en una fase más temprana del embarazo, entre las 8 y las 10 semanas. Sin embargo, debido a que el feto es muy pequeño, este procedimiento conlleva un mayor riesgo de perturbación del feto y aborto espontáneo que la amniocentesis.

El cariotipo se realiza fácilmente en adultos para buscar anomalías en los cromosomas. Normalmente se extrae sangre de un adulto y se utilizan los glóbulos blancos para el cariotipo. Una técnica relativamente nueva de cariotipo tanto en fetos como en adultos es la **hibridación fluorescente *in situ* (FISH).** En la FISH se prepara una muestra de cromosoma en una placa y después se hibridan sondas fluorescentes en cada cromosoma. Cada sonda es específica para determinadas secuencias «marcadoras» en cada cromosoma. En algunos casos, la FISH se puede desarrollar con sondas que emiten luz fluorescente en colores diferentes. Esto produce un **cariotipo espectral.** La FISH resulta muy útil para identificar cromosomas ausentes o sobrantes, pero en particular facilita mucho más que el cariotipo convencional la detección de cromosomas defectuosos. Se producen gran cantidad de enfermedades genéticas humanas por anomalías cromosómicas cuando se elimina una parte de un cromosoma o cuando una parte de uno se intercambia con una parte de otro debido a problemas en la replicación de cromosomas. Por ejemplo, en un tipo de leucemia (cáncer de los glóbulos blancos) denominado leucemia mielógena crónica, se intercambia DNA entre los

cromosomas 9 y 22, y viceversa (Figura 11.3). Este intercambio se puede detectar mediante la FISH usando sondas fluorescentes de diferentes colores para cada cromosoma.

La mayoría de las enfermedades genéticas son el resultado de mutaciones en genes específicos en lugar de anomalías en el número de cromosomas o defectos en la estructura cromosómica. Gracias a que se están desarrollando técnicas más sofisticadas, los científicos pueden detectar genes *individuales* enfermos tanto en fetos como en adultos. Esta capacidad se irá haciendo cada vez más común a medida que conozcamos más acerca de los genes causantes de enfermedades como resultado del Proyecto del Genoma Humano.

Algunas enfermedades genéticas se pueden detectar tanto en embriones como en adultos a partir de células amnióticas o de los glóbulos sanguíneos mediante el **análisis de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP).** La idea principal del análisis RFLP es que es posible que las secuencias de genes defectuosos se corten mediante enzimas de restricción de forma diferente a los complementos normales, debido a que los cambios en los nucleótidos de los genes mutantes pueden afectar a los sitios de corte de las enzimas de restricción para crear más o menos nucleótidos. Recuerda del Capítulo 8 que el análisis RFLP se utiliza para registrar el DNA de las huellas dactilares. A modo de ejemplo, si se corta el DNA de un individuo sano y el de un individuo con drepanocitosis con enzimas de restricción, serán de distintos tamaños debido a la forma en que las enzimas de restricción cortan cada gen. Esto se puede observar de manera clara cuando los fragmentos de DNA se someten al análisis *Southern blot* con una sonda para el gen ß-globina, el gen que se ve afectado en la drepanocitosis (Figura 11.4). Por tanto, el término polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción, es decir, fragmentos de diferentes longitudes o formas («poli» significa mucho y «morfismo» se refiere a la forma de algo) está creado por las enzimas de restricción.

La drepanocitosis se produce cuando una persona tiene dos versiones mutantes del gen ß-globina. Las copias mutantes de la proteína del gen ß-globina producen una forma anormal de hemoglobina que afecta al tamaño y la forma de los glóbulos rojos, dándoles una apariencia característica «falciforme» (véase también la Figura 2.20).

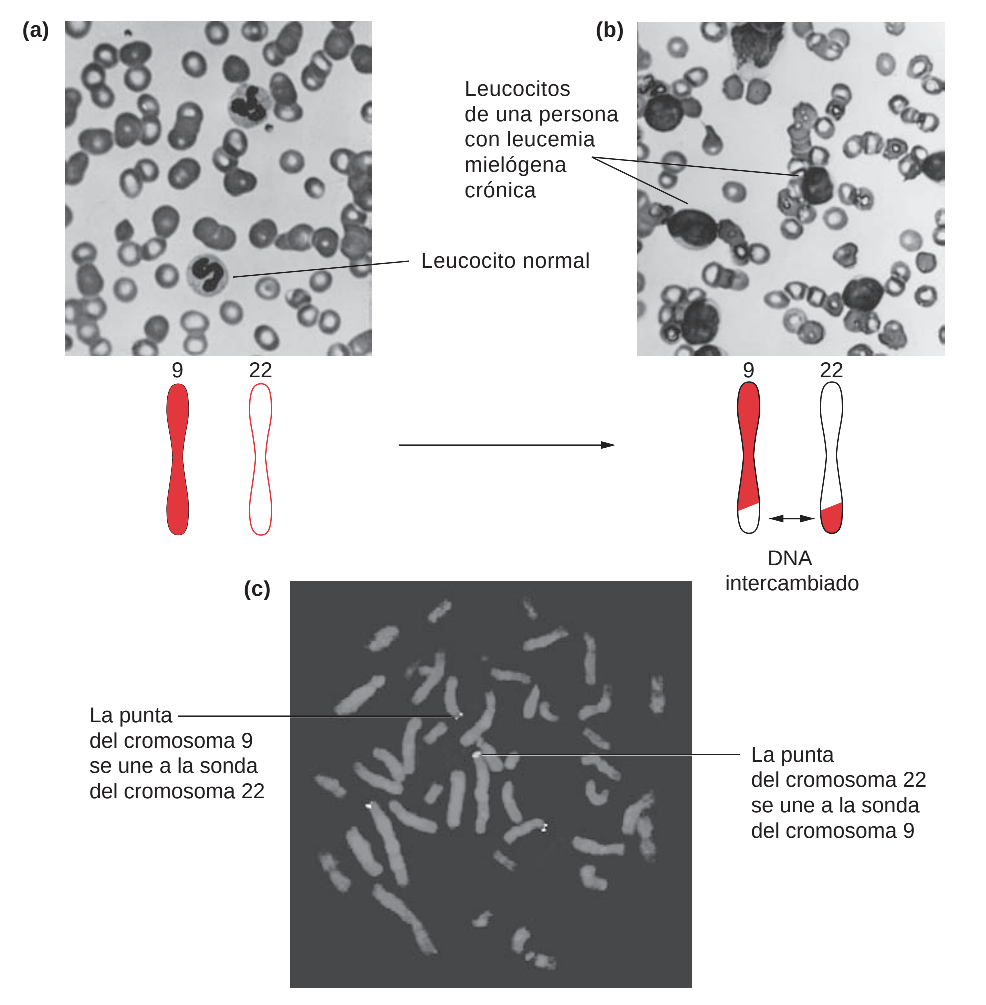


Figura 11.3 Se puede usar la FISH para detectar defectos en los cromosomas La leucemia mielógena crónica, un cáncer de los leucocitos debido al intercambio de los genes de los cromosomas 9 y 22, se puede detectar mediante la utilización de pruebas específicas de cada cromosoma, que emiten diferentes colores fluorescentes.

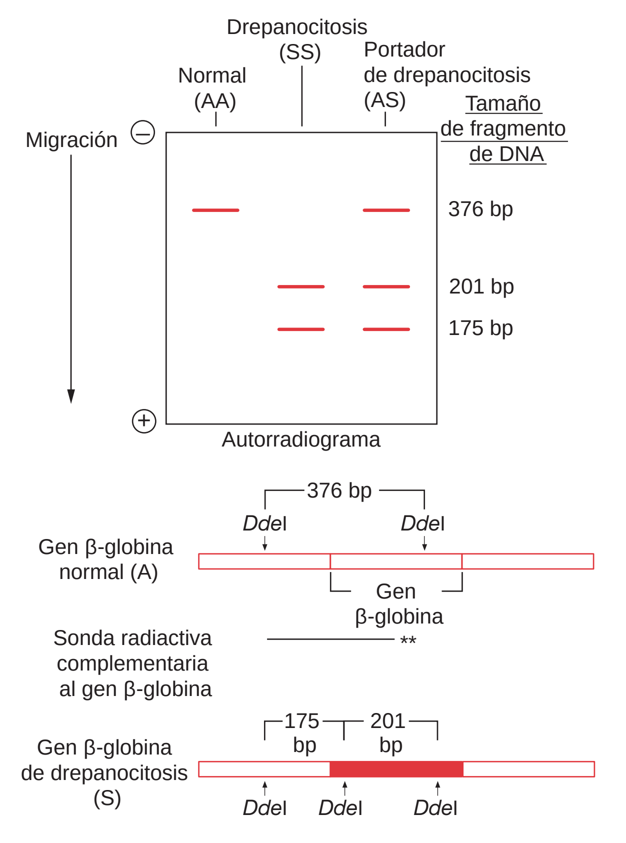


Figura 11.4 Utilización del análisis RFLP para detectar una enfermedad genética Se sometió DNA humano cortado con una enzima de restricción (*Dde*I) a electroforesis en gel de agarosa, a lo que siguió un análisis Southern blot para transferir el DNA a una membrana de nylon e hibridación con una sonda radiactiva específica del gen ß-globina. El gen ß-globina normal (A) contiene dos zonas de corte para la enzima *Dde*I; las mutaciones en el gen ß-globina (mutado) de la drepanocitosis (S) crean tres zonas de corte para *Dde*I. Se detectan diferencias en el tamaño de los fragmentos del DNA (polimorfismos) mediante autorradiografía, dependiendo del lugar de unión de la sonda a las secuencias complementarias del gen ß-globina. Una persona sana con dos copias del gen ß-globina normal (AA) presenta una sola banda con 376 bp; una persona con drepanocitosis (SS) tendría dos copias del gen ß-globina mutante y presenta bandas con 201 y 175 bp. Una persona considerada «portador» tendría un gen ß-globina normal y uno defectuoso (AS), pero no tendría drepanocitosis porque hay una copia del gen ß-globina que funciona correctamente; las bandas presentan 376, 201 y 175 bp.

Una de las desventajas del análisis RFLP reside en que sólo se pueden utilizar para analizar defectos de los genes en los que una mutación cambia una secuencia de reconocimiento de enzima de restricción en un gen. Un método denominado **análisis de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO)** permite detectar un único cambio en un nucleótido de cualquier gen, incluso aunque la mutación no modifique ningún sitio de restricción. En esta técnica el DNA se aísla de las células humanas, normalmente de los glóbulos blancos, y después se amplifica mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando *primers* o cebadores que flanquean al gen causante de una enfermedad que se quiere investigar. Después el DNA amplificado se seca en filtros de nylon y se hibrida de forma separada en dos ASO diferentes en forma de sondas. Los ASO son pequeñas secuencias de oligonucleótidos de una cadena de unos 20 nucleótidos de largo. Se utiliza un ASO para hibridar un gen normal y otro para el gen mutante. La Figura 11.5 muestra un ejemplo de cómo se pueden utilizar los análisis ASO para estudiar el gen de la drepanocitosis. Las pruebas como ésta, basadas en la PCR, cada vez resultan más valiosas para detectar genes enfermos. Una de las principales ventajas de la PCR reside en su alta sensibilidad para detectar defectos en pequeñas cantidades de DNA. Por consiguiente, los análisis PCR y ASO, así como la FISH se utilizan para hacer pruebas a los genes defectuosos en células individuales provenientes de embriones de entre 8 y 32 fases celulares creados mediante fertilización *in vitro*. Dichas **pruebas genéticas de preimplantación** permiten a los individuos seleccionar un embrión sano antes de la implantación.

En la actualidad se pueden testar varias decenas de genes defectuosos en adultos o fetos utilizando muchas de las técnicas que se han descrito (Tabla 11.1). Consulta «Herramientas del comercio» en la Sección 11.5 para conocer excelentes páginas web donde poder aprender más sobre los genes causantes de las enfermedades humanas.

Polimorfismos de nucleótido simple

Uno de los numerosos descubrimientos intrigantes del Proyecto del Genoma Humano es el descubrimiento de que ligeras alteraciones en el DNA denominadas **polimorfismos de nucleótido simple (SNP)** representan una de las formas más comunes de variación ge-

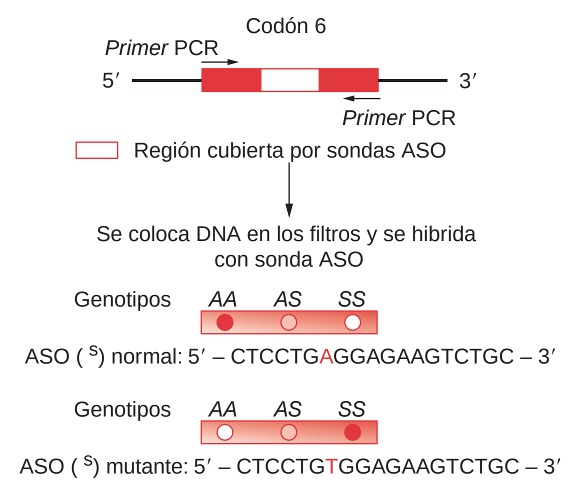


Figura 11.5 Utilización de PCR y ASO para estudiar el gen de la drepanocitosis Las pruebas ASO resultan muy valiosas para detectar mutaciones de un nucleótido, como la que provoca la drepanocitosis (véase también la Figura 2.20). En este ejemplo, el DNA de los leucocitos se amplifica mediante PCR, se seca en un filtro de papel, se hibrida en sondas ASO y se visualiza por medio de autorradiografías. La ASO para el gen de la hemoglobina normal ($ß^A$) sólo se unirá al DNA de los filtros si el gen normal está presente; la ASO para el gen de la hemoglobina mutante ($ß^s$) sólo se unirá al gen defectuoso si se encuentra presente en el filtro. El DNA de individuos con dos copias del gen de la hemoglobina de la drepanocitosis (SS) sólo se unirá a $ß^s$ ASO y no a $ß^A$ ASO.

Tabla 11.1 PRUEBAS DE ENFERMEDADES GENÉTICAS

Enfermedad genética	Base genética para enfermedades y síntomas
Cánceres (tumores cerebrales; de vejiga, de próstata, de ovarios, de mama, cerebral, de pulmón y colorrectal)	Una gran variedad de genes mutantes pueden servir de marcadores para pruebas genéticas.
Distrofia muscular de Duchenne	Un gen defectuoso (distrofín) en el cromosoma X provoca debilidad y degeneración muscular.
Drepanocitosis	Mutación del gen ß-globina en el cromosoma 11 que afecta a la estructura de la hemoglobina y a la forma de los glóbulos rojos, lo que interrumpe el transporte de oxígeno en la sangre y provoca dolor en las articulaciones.
Enfermedad de Huntington	Mutación de un gen en el cromosoma 4 que provoca esta enfermedad neurodegenerativa en adultos.
Enfermedad de Tay-Sachs	Mutación poco frecuente de un gen del cromosoma 5 que hace que ciertos tipos de lípidos se acumulen en el cerebro. Provoca parálisis, ceguera, retraso mental e infecciones respiratorias.
Fenilcetonuria (PKU)	Mutación de un gen necesario para convertir el aminoácido fenilalanina en el aminoácido tirosina. Provoca daños neurológicos graves, entre los que se incluye el retraso mental.
Fibrosis quística	Una gran cantidad de mutaciones en el gen CFTR (regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística) del cromosoma 7. Provoca infecciones de pulmón y problemas pancreáticos, digestivos y pulmonares.
Hemofilia	Un gen defectuoso en el cromosoma X dificulta la coagulación de la sangre al sangrar.
Hipercolesterolemia familiar	Un gen mutante en el cromosoma 19 provoca unos niveles extraordinariamente altos de colesterol en sangre
Inmunodeficiencia combinada grave (SCID)	Enfermedad del sistema inmune provocada por la mutación del gen adenosina deaminasa.

nética entre los humanos. Los SNP son cambios de nucleótidos simples en las secuencias de DNA que varían de individuo a individuo (véase la Figura 1.11).

Se han encontrado SNP en todos los cromosomas humanos. Se estima que aproximadamente se produce un SNP una vez por cada 1.000 a 3.000 pares de bases en el genoma humano. Hasta la fecha se han identificado más de 1,4 millones de SNP. Si se compara un segmento de un DNA cromosómico de dos personas diferentes mediante secuenciamiento de DNA, aproximadamente el 99,9 por ciento del DNA será el mismo exactamente. Una mayoría (superior al 80 por ciento) de la variación del 0,1 por ciento en las bases entre estas dos personas será SNP. La mayoría de los SNP no tienen efecto en las células debido a que se producen en regiones que no codifican para proteínas (intrones) del genoma. No obstante, cuando se produce un SNP en una secuencia de genes, puede provocar un cambio en la estructura de proteínas que cause una enfermedad o influya en sus características de muchas formas diferentes, entre las que se encuentra conferir susceptibilidad a algunos tipos de enfermedades.

Los SNP representan variaciones en las secuencias de DNA que a la larga influyen en nuestra forma de responder al estrés y las enfermedades. El primer SNP que se descubrió asociado a una enfermedad fue la enfermedad de la drepanocitosis. Dado que el SNP ocurre frecuentemente en todo el genoma, puede servir como valioso marcador genético para identificar enfermedades relacionadas con los genes. Algunos SNP podrían utilizarse para predecir susceptibilidad a enfermedades como el ictus cerebral, la diabetes, el cáncer, las cardiopatías, trastornos de comportamiento y emocionales, y muchos otros trastornos que pueden tener origen genético.

Se cree que los SNP son tan prometedores que las compañías farmacéuticas han invertido millones de euros en una iniciativa de colaboración denominada *HapMap Project.* Muchos SNP del mismo cromosoma están agrupados en grupos denominados haplotipos. «Hap» es una abreviatura de haplotipo. HapMap supone un esfuerzo internacional llevado a cabo por compañías, instituciones académicas y fundaciones privadas con el objetivo de identificar y catalogar las locaciones cromosómicas (loci)

de los más de 1,4 millones de SNP que se encuentran presentes en los 3.000 millones de pares de bases del genoma humano y de comprender la función del SNP en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades.

Identificación de conjuntos de genes causantes de enfermedades mediante análisis de *microarray*

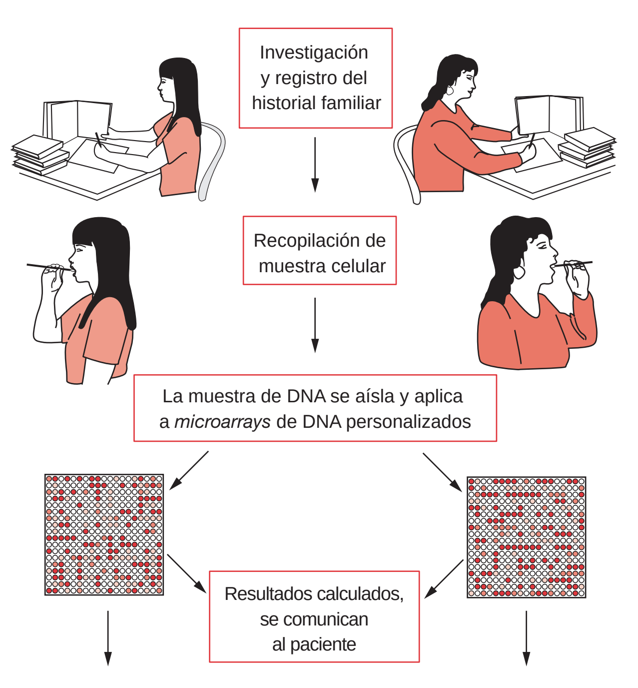
Otra técnica relativamente nueva para estudiar los genomas también desempeñará un papel importante en la detección de enfermedades genéticas. Los ***microarrays* de DNA,** también llamadas chips de genes, son placas microscópicas de cristal con genes (véase el Capítulo 3). Un único *microarray* puede contener miles de genes. Los investigadores pueden usar *microarrays* para hacer pruebas a un paciente sobre un patrón de genes que se puede expresar en una determinada enfermedad. Como se muestra en la Figura 11.6, los datos de los *microarrays* se pueden utilizar posteriormente para comprender el riesgo del paciente de desarrollar una enfermedad en función del número de genes expresado para la enfermedad que éste muestra.

Por ejemplo, los *microarrays* creados a partir de genes enfermos conocidos o determinados SNP, resultarán útiles para estudiar los genes expresados en un paciente. Para hacer esto, se aísla DNA o RNA de una muestra de tejido del paciente, una muestra de sangre o incluso de células raspadas de las mejillas. El DNA del paciente se marca con colorantes fluorescentes y después se hibrida con el chip. Las manchas en el *microarray* donde el DNA del paciente está unido se revelan mediante fluorescencia (Figura 3.17). La unión del DNA de un paciente a una secuencia de genes del chip indica que el DNA de la persona tiene una mutación particular o SNP. Incluso existen compañías que están trabajando en dispositivos de chip manuales que los doctores pueden utilizar para obtener información casi al instante sobre la genética del paciente. Actualmente se están utilizando *microarrays* para identificar diferencias genéticas en pacientes con varios tipos de cáncer. Las estrategias de tratamiento para combatir el cáncer se están diseñando en función de sutiles diferencias en la expresión de los genes causantes del cáncer.

A lo largo de este capítulo estudiaremos la forma en que la biotecnología puede ayudar a desarrollar nuevos tratamientos para enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como Parkinson, Alzheimer, cardiopatías, cáncer, ictus y artritis. Sabemos que más de 50.000 estadounidenses tienen más de 100 años y que los genes desempeñan un papel fundamental en la longevidad de los humanos. De hecho, se estima que cerca de 1.000 genes podrían controlar la vida. Para este fin, los científicos están utilizando *microarrays* para apuntar hacia genes que pueden influir en el envejecimiento. Los estudios realizados a hermanos con 90 y 100 años sugieren que al menos un gen en el cromosoma 4, y probablemente muchos otros, proporcionan pistas acerca de por qué algunas personas viven más que otras.

Los ***microarrays* de proteínas** constituyen una nueva opción para el diagnóstico de enfermedades. Se utilizan de forma similar a los chips de DNA. Por ejemplo, estos chips pueden contener cientos o miles de anticuerpos en un mismo chip. Al aplicar proteínas sanguíneas de los pacientes, los investigadores han sido capaces de detectar enfermedades indicadas por la presencia de proteínas de los organismos que provocan enfermedades.

En la próxima sección veremos cómo la biotecnología proporcionará nuevos productos que se podrán utilizar para tratar las enfermedades humanas.



Perfil genético de Susana

Rasgo	Riesgo
Comportamiento adictivo	Mayor que la población general
Cáncer de pulmón	Mayor que la población general
Cáncer de colon	Menor que la población general
Enfermedad de Alzheimer	Menor que la población general

Perfil genético de Lisa

Rasgo	Riesgo
Fibrosis quística	Diagnóstico 100%
Diabetes mellitus tipo II	Menor que la población general
Enfermedad cardiovascular	Mayor que la población general

Figura 11.6 Utilización de *microarrays* de genes para crear un perfil genético

11.2 Productos médicos y aplicaciones de la biotecnología

Identificar nuevos medicamentos y desarrollar nuevas formas de tratar enfermedades constituyen las áreas principales de la biotecnología médica. En los Capítulos 4 y 5 tratamos la forma en que se han utilizado las distintas proteínas, como por ejemplo la insulina y la hormona del crecimiento humano producidas mediante tecnología de



TÚ DECIDES

Pruebas genéticas: aspectos que hemos de tener en cuenta

Desde que disponemos de pruebas genéticas ha surgido una serie de preocupaciones sobre el uso de la información genética y para qué se podría utilizar, más allá de las decisiones personales y privadas. Tengamos en cuenta las siguientes consideraciones:

- ¿Deberíamos hacer pruebas de enfermedades genéticas para las que actualmente no existe tratamiento o cura en bebés no nacidos o en adultos?
- ¿Qué sería razonable esperar de unos padres que se enteren de que su bebé no nacido tiene un defecto genético?
- ¿Qué efectos psicológicos tiene un resultado falso que indique de forma errónea que una persona sana tiene un gen causante de una enfermedad o un gen defectuoso que no se detecta en una persona con un trastorno genético?
- ¿Cómo garantizamos la privacidad y confidencialidad de la información genética y evitamos la discriminación genética? ¿Quién debería tener acceso a tu información genética? ¿En qué sentido se podrían usar tus antecedentes genéticos para discriminarte? ¿En qué medida podría afectar a tus primas el hecho de que tu compañía sanitaria o de seguros acceda a tu información genética? ¿Podrían verse aumentadas tus primas en función del riesgo «genético» de la misma forma en que se elevan las primas en función de otros riesgos como tu edad o el coche que conduces?
- ¿Estamos obligados a informar a otros (como un futuro cónyuge o un empresario) acerca de un posible trastorno genético?
- Si se descubren genes responsables de comportamientos humanos indeseables, ¿qué efecto tendrían estos genes en los tribunales si los acusados utilizan la genética como argumento para su defensa?
- ¿Implementaría la sociedad mecanismos para impedir que los individuos con defectos genéticos tuvieran hijos?
- Los errores en las pruebas genéticas pueden tener trágicas consecuencias. En la actualidad no existen estándares en la administración federal para controlar la calidad de las pruebas genéticas en Estados Unidos. ¿Debería ser obligatorio un examen de competencia para minimizar errores?

Como puedes ver, las pruebas genéticas presentan controversias y limitaciones, y hay muy pocas preguntas fáciles de responder al respecto. Visita la página web *Your Genes, Your Choices* de la página web adjunta para ver una serie de dilemas éticos generados por la tecnología y las pruebas genéticas. ¿Qué harías si tuvieras que enfrentarte a estas situaciones? Tú decides.

DNA recombinante, para tratar las enfermedades humanas. En este capítulo veremos un par de ejemplos de productos importantes de la biotecnología médica de los que oirás hablar en el futuro.

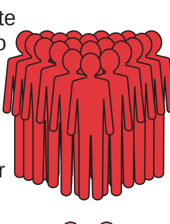
La búsqueda de nuevas medicinas y fármacos

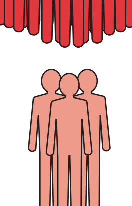
Se estima que el cáncer pronto sobrepasará a las enfermedades cardiovasculares como la principal causa de muerte en Estados Unidos. Sin embargo, los numerosos y prometedores grandes avances que se vislumbran pueden dotar a los médicos de nuevas estrategias para tratar los diferentes tipos de cáncer. Los científicos están investigando gran parte de los genes involucrados en el crecimiento de las células cancerígenas, entre los que se incluyen los denominados **oncogenes.** Los oncogenes producen proteínas que pueden funcionar como factores de transcripción y receptores de hormonas y factores de crecimiento, así como servir como enzimas capaces de cambiar las propiedades del crecimiento de las células que provocan cáncer. Asimismo, los científicos están estudiando los genes supresores de tumores que producen proteínas que pueden inhibir el desarrollo de cáncer.

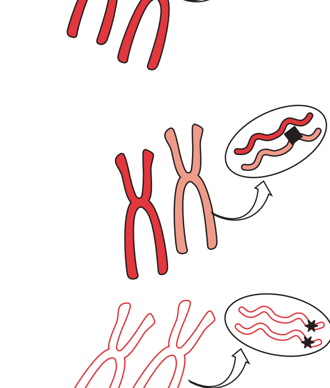
Se le está prestando tanta atención a los oncogenes y a los genes supresores de tumores porque los investigadores están trabajando en formas de identificar las proteínas creadas por estos genes como objetivos para los pequeños inhibidores de moléculas: medicamentos que se pueden unir a las proteínas y bloquear sus funciones. De igual manera, los investigadores están trabajando en medicamentos que pueden actuar como «activadores» para unirse y estimular proteínas importantes que se pueden utilizar para combatir enfermedades. Además de los pequeños medicamentos moleculares, se está investigando exhaustivamente para personalizar la medicina y mejorar la administración de fármacos.

La farmacogenómica como medicina personalizada

El descubrimiento de los SNP es responsable en parte de un nuevo campo emergente denominado **farmacogenómica:** la medicina personalizada. Comprende el diseño de terapias con fármacos más eficaces y de estrategias de tratamiento basadas en el perfil genético específico de cada paciente. La farmacogenómica se basa en la idea de que los individuos reaccionan de forma diferente a los mismos fármacos, los cuales pueden tener grados variables de eficacia y efectos secundarios en parte debido a los polimorfismos genéticos (Figura 11.7). Aún no está claro si la farmacogenómica resultará rentable; en cualquier caso, este campo de la biotecnología médica tiene un gran potencial.







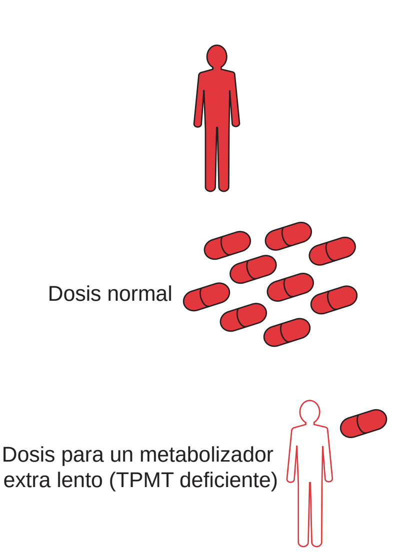


Figura 11.7 **Farmacogenómica** Individuos diferentes con la misma enfermedad a menudo responden de forma diferente a un tratamiento con un fármaco debido a sutiles diferencias en la expresión de genes. La dosis que funciona para una persona puede resultar tóxica para otra: un problema básico de la medicina convencional. Este ejemplo muestra la respuesta del paciente a un compuesto de la quimioterapia denominado 6-mercaptopurina (6-MP), que se ha usado durante mucho tiempo para tratar a los niños que padecen un tipo de cáncer de sangre denominado anemia linfocítica aguda (ALL). Desde que se descubrió que las distintas variaciones genéticas del gen de la enzima tiopurina metiltransferasa que degrada la 6-MP son importantes para determinar la forma en que los pacientes responden a 6-MP, los médicos realizan pruebas genéticas rutinarias (o pruebas sanguíneas para medir los niveles de enzimas) en todos los pacientes ALL antes de determinar la dosis adecuada de 6-MP.

Muchos de los fármacos que se usan actualmente en la **quimioterapia** son eficaces contra las células cancerígenas, pero también afectan a las células normales. Pérdida de cabello, sequedad de piel, cambios en los niveles de células sanguíneos y náuseas: todos están relacionados con los efectos de la quimioterapia sobre las células normales. Los investigadores han estado buscando los denominados fármacos de bala mágica, que sólo destruyen las células cancerígenas sin dañar las células normales del organismo. Si se diseñaran esos fármacos, probablemente los pacientes se recuperarían mucho más rápido, ya que los fármacos apenas tendrían efectos en las células normales de otros tejidos. Veamos el siguiente ejemplo de la farmacogenómica en acción. El cáncer de mama es una enfermedad que guarda relación con los antecedentes familiares en algunas mujeres. Las mujeres que tienen copias defectuosas de los genes denominados *BRCA1* o *BRCA2* tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama, pero muchos otros casos de cáncer de mama no muestran una forma clara de relación con antecedentes familiares. Quizás existan otros genes o factores no genéticos relacionados con estos casos. Si una mujer tiene un tumor en la mama sospechoso de ser cancerígeno, se podría utilizar una pequeña parte del tejido para aislar el DNA para realizar análisis SNP y *microarray*, los cuales se utilizarán para determinar los genes que intervienen en esta forma particular de cáncer de mama. Con esta información, un médico podría diseñar una estrategia de tratamiento con fármacos (basada en los genes involucrados) que resultaría *específica* y *más eficaz* contra este tipo de cáncer de las mujeres. Una segunda mujer con otro perfil genético para su tipo de cáncer de mama se sometería a un tratamiento diferente.

Los científicos de Genentech utilizaron esta estrategia para desarrollar el herceptín, un tipo de anticuerpo monoclal (los monoclonales se tratan en la siguiente sección) aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en 1998. El herceptín se vincula a una proteína (HER-2) producida por el receptor del factor de crecimiento epidérmico del gen 2, que está expresado en entre el 25 por ciento y el 30 por ciento de los casos de cáncer de mama. Las mujeres con tumores positivos HER-2 normalmente desarrollan un cáncer de mama agresivo con una mayor probabilidad de metástasis (propagación) y peores probabilidades de supervivencia. El herceptín ha resultado eficaz en algunas mujeres, pero en otras los tumores se vuelven resistentes al anticuerpo. Un problema similar ha ocurrido con otros fármacos de la farmacogenómica desarrollados para el tratamiento de otros cánceres.

Uno de los primeros ejemplos de éxito de la farmacogenómica fue el del fármaco denominado *Gleevec* utilizado para tratar la leucemia mielógena crónica (CML), como se ilustra en la Figura 11.3. Gleevec tiene como objetivo una proteína denominada proteína de fusión BCR-ABL, creada por el intercambio de DNA que se produce en la CML y que en general ha demostrado ser una forma eficaz de tratar la enfermedad. Visita la página web del Howard Hughes Medical Institute y accede al vínculo de animaciones para observar Gleevec en acción.

Cada vez se utilizan más los datos de expresión de genes de *microarrays* de DNA para hacer un diagnóstico de los pacientes en función de los genes que expresan para después proporcionarles un tratamiento farmacogenómico basado en esos genes. La Figura 11.8 muestra un ejemplo de datos de *microarray* para individuos a los que se les han diagnosticado diferentes formas de leucemia. Date cuenta de cómo se pueden agrupar los pacientes en diferentes categorías genéticas de leucemia en función de los grupos de genes que se expresan de forma más activa. Dado que cada grupo de pacientes expresó grandes cantidades de genes y proteínas diferentes, no existe ninguna razón para pensar que todos responderán bien a la misma quimioterapia. Teniendo esto presente, se puede personalizar la quimioterapia para cada categoría de pacientes. Por consiguiente, esto ha aumentado considerablemente la tasa de supervivencia de los pacientes. Se ha utilizado un enfoque similar para las pacientes con cáncer de mama, y se espera que los datos de *microarray* y los métodos de la farmacogenómica vayan aumentando los aspectos rutinarios de diagnóstico y tratamiento de enfermedades.

Mejora de las técnicas de administración de fármacos

Además de desarrollar nuevos fármacos para combatir las enfermedades, muchas compañías están trabajando para desarrollar formas innovadoras de administrar fármacos para maximizar su eficacia. En ocasiones incluso un fármaco bien diseñado no resulta tan eficaz como se desea debido a problemas de administración (conseguir que el fármaco funcione donde se necesita). Por ejemplo, si un fármaco para tratar la artritis de rodilla se administra como una píldora oral, el organismo sólo absorberá una pequeña cantidad del fármaco y se transportará por la sangre a los tejidos de la rodilla. Otros factores que influyen en la eficacia del fármaco son su solubilidad (capacidad de disolverse en los fluidos corporales), la capacidad de descomposición por parte de los órganos y la capacidad de eliminación por el hígado y los riñones.

Las **microesferas,** pequeñas partículas que se pueden rellenar o cubrir con fármacos, pueden mejorar la eficacia de los fármacos. Estas partículas a menudo están compuestas por materiales que se asemejan bastante a los lípidos (grasas) de las membranas celulares. La administración de microesferas en forma de spray nasal y bucal ha resultado exitosa en el tratamiento del cáncer de pulmón y otras enfermedades respiratorias como asma, enfisema, tuberculosis y gripe (Figura 11.9). Consulta la sección 11.3 para conocer cómo se utilizan las microesferas denominadas liposomas en la terapia génica. Asimismo, los investigadores están estudiando formas de empaquetar fármacos para el tratamiento del cáncer en microesferas para implantarlos en la región adyacente a los tumores en crecimiento y anestésicos para el tratamiento del dolor.

En 2006 la FDA aprobó Exubera, una versión inhalable de insulina producida por Nektar Therapeutics of San

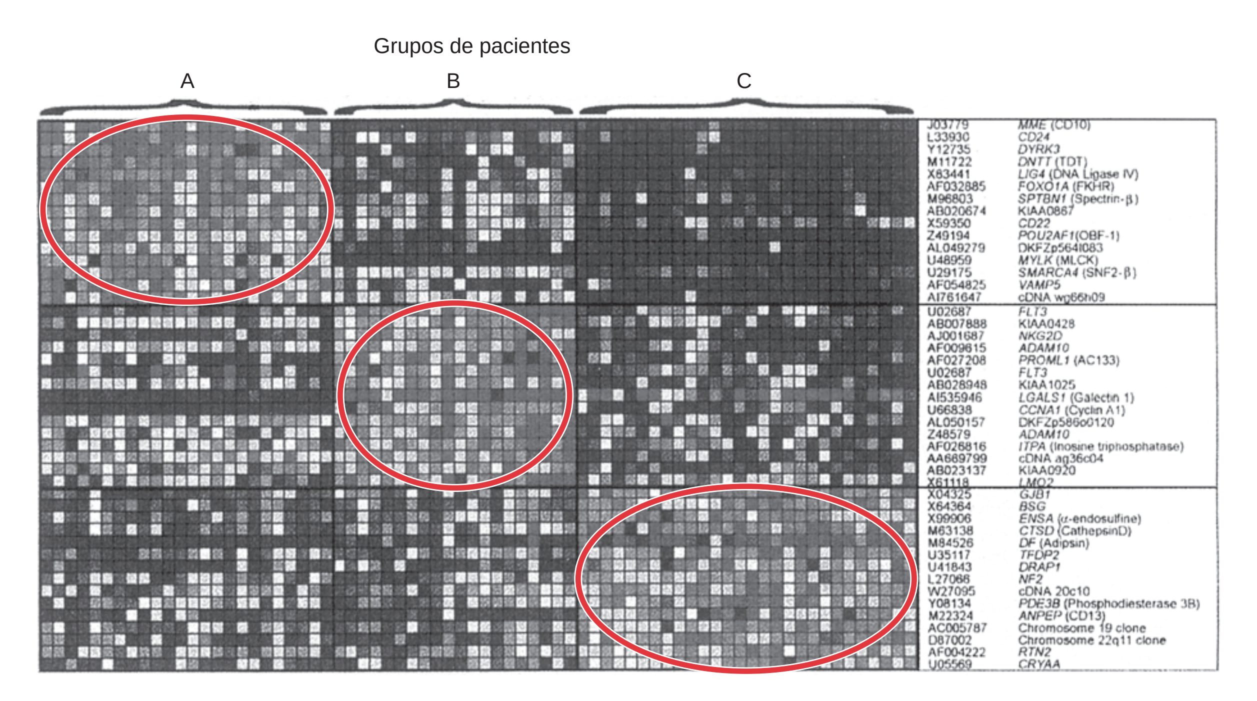


Figura 11.8 ***Microarrays* para análisis de la expresión de genes y la farmacogenómica** Aquí se muestran los resultados del *microarray* que indican perfiles de expresión de genes en pacientes con leucemia. Cada columna representa los datos de un paciente y cada fila es un gen diferente (los símbolos y los nombres de los genes se encuentran en la parte derecha de la figura). Dado que esta imagen en blanco y negro es una reproducción de una imagen de color, los puntos grises que se muestran aquí representan los genes activos altamente expresados. Los círculos rojos resaltan los grupos de genes expresados de forma activa (puntos blancos y grises) que se pueden usar para categorizar a los pacientes en diferentes agrupaciones en función de los genes expresados y relativamente inactivos (puntos oscuros).

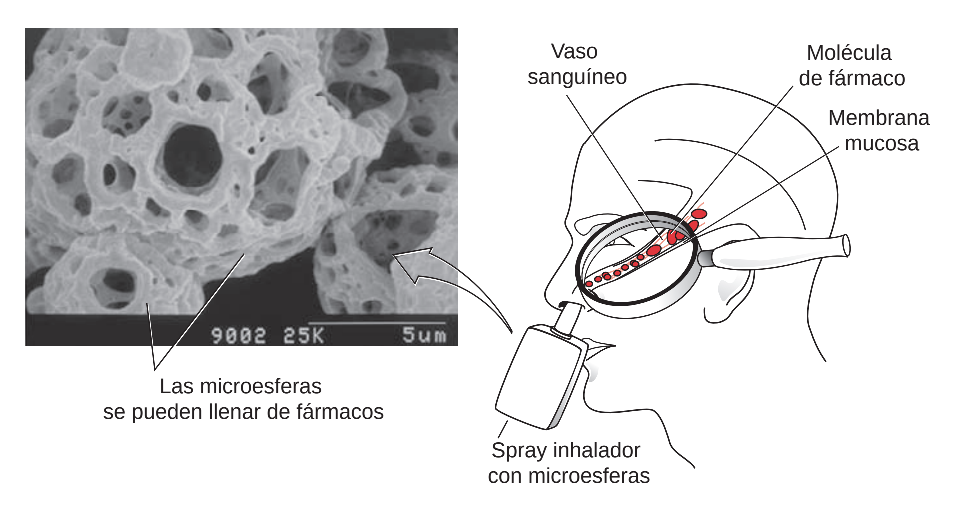


Figura 11.9 Microesferas para la administración de fármacos Las microesferas pueden administrar fármacos en ubicaciones específicas del cuerpo o distribuirlos por todo el organismo en función de cómo se utilicen. En este ejemplo se aplican microesferas que contienen fármacos con un spray en la nariz, donde entrarán en los vasos sanguíneos y rápidamente accederán al torrente sanguíneo para desplazarse por todo el cuerpo.

Francisco y comercializada por el gigante farmacéutico Pfizer. Exubera es una forma recombinante de insulina que se administra en forma de polvo inhalable y ofrece a los diabéticos la primera alternativa a las inyecciones de insulina. Sin embargo, después de un año Pfizer dejó de vender Exubera debido a que se registraron pocas ventas. Entre las razones que se han dado para el fracaso de Exubera se encuentran la falta de voluntad de médicos y pacientes de probar algo nuevo, un aparatoso inhalador para administrar las partículas, y una mala estrategia de *marketing.*

Nanotecnología y nanomedicina: la biotecnología a nanoescala

La **nanotecnología** es un área de la ciencia que trata del diseño, la construcción y la manipulación de estructuras a escala nanométrica. Un nanómetro (nm) es una milmillonésima parte de un metro y es la escala de medida de las moléculas. A modo de referencia, un pelo humano mide aproximadamente 200.000 nm de diámetro, el DNA mide cerca de 2 nm de diámetro y los enlaces entre muchos átomos miden cerca de 0,15 nm de largo. La nanotecnología es una gran disciplina que comprende aplicaciones de manufactura de materiales, energía, electrónica e ingeniería, pero la **nanomedicina** (aplicaciones de nanotecnología para mejorar la salud humana) resulta especialmente interesante para la biotecnología médica. Los científicos se imaginan diminutos dispositivos en el organismo que lleven a cabo multitud de funciones médicas, entre las que se incluyen los nanodispositivos sensores para controlar la presión sanguínea, los niveles de oxígeno en sangre y las concentraciones hormonales, así como nanopartículas que puedan desatascar arterias bloqueadas y detectar y eliminar células cancerígenas.

En la actualidad se están abriendo paso en el mercado varios fármacos compatibles con la nanotecnología, especialmente en el campo del tratamiento del cáncer, y se están desarrollando más de 150 terapias contra el cáncer. Los científicos han desarrollado los denominados fármacos inteligentes mediante la utilización de virus o diminutas nanopartículas, como por ejemplo partículas de oro que se introducen en el organismo para buscar y establecer objetivos de virus y células específicas, como las células cancerígenas, para administrar una carga que trate o destruya de forma silenciosa y con pocos efectos secundarios las células que resulten dañadas rápida y eficazmente (Figura 11.10).

Algunas de estas ideas ya se han probado en pacientes, con resultados prometedores, y los nanotecnólogos se muestran optimistas respecto al potencial de esta tecnología.

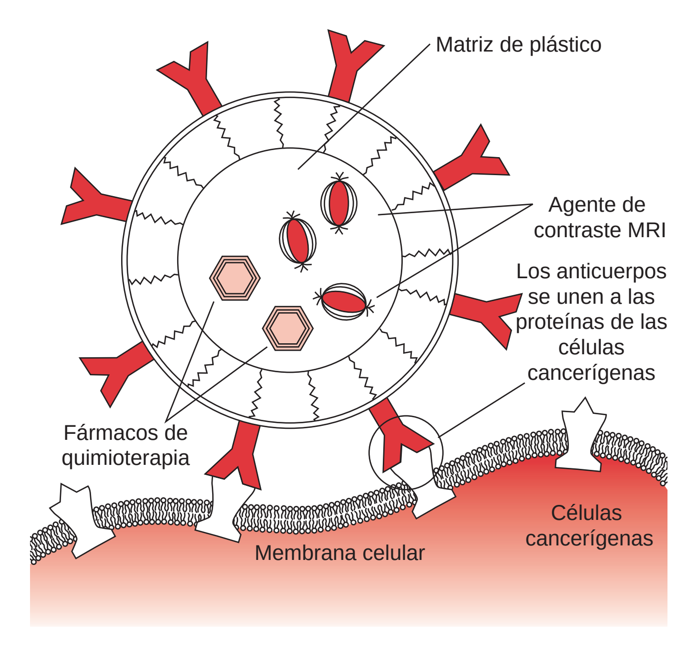


Figura 11.10 Nanopartículas que buscan y matan tumores Se han desarrollado nanopartículas multifuncionales que se han mostrado prometedoras en la búsqueda y detección de células tumorales para ayudar a visualizar las células y administrar fármacos antitumorales que puedan matar células cancerígenas. Este ejemplo muestra una nanopartícula de plástico cubierta con anticuerpos contra las proteínas de las células cancerígenas que permiten a la partícula unirse a las células cancerígenas. Dentro de la partícula se encuentran agentes de contraste que se pueden usar para obtener imágenes de resonancia magnética o métodos con rayos X para detectar el tumor fármacos de quimioterapia que pueden difundir fuera de la partícula para matar células tumorales.

Sangre artificial

Desde los años 1930 se han venido realizando transfusiones de sangre de forma rutinaria y exitosa en los Estados Unidos. Las transfusiones son necesarias para tratar a las víctimas de traumatismos, proporcionándoles sangre durante la cirugía, y para las personas con trastornos de la coagulación como la hemofilia. En la década de 1980 el descubrimiento de que el HIV había contaminado muchas muestras de sangre dio como resultado nuevas técnicas de comprobación que han hecho las reservas de sangre mucho más seguras. La sangre que se dona para transfusiones ahora se analiza en busca de patógenos como el HIV y virus como los de la hepatitis B y C antes de almacenarse, si bien la sangre donada sólo tiene una vida de un par de meses y se debe refrigerar. No obstante, en muchas partes del mundo, y en especial en los países en vías de desarrollo, donde los procedimientos de control no son óptimos, existe una gran necesidad de obtener sangre segura, libre de bacterias infecciosas y virus. Muchas de estas preocupaciones han impulsado a los científicos a buscar formas de desarrollar sangre artificial o sustitutos sanguíneos.

Entre las principales ventajas de la sangre artificial podríamos citar que se trata de una alternativa a la sangre real libre de enfermedades, un suministro constante de sangre frente a la escasez de sangre y las situaciones de emergencia y una reserva de sangre que se puede almacenar durante largos períodos de tiempo. Además, a diferencia de la sangre donada, la sangre sintética no tendría que corresponder al tipo de sangre del paciente receptor para evitar el rechazo del sistema inmunitario. La principal limitación que existe en el desarrollo de sangre sintética hasta la fecha consiste en que la sangre artificial se ha diseñado para cumplir la tarea principal de los glóbulos rojos normales (transportar el oxígeno a los tejidos corporales, un papel desempeñado por la hemoglobina, la proteína que transporta oxígeno). Los glóbulos rojos son literalmente fábricas de hemoglobina y están llenos de esta importante proteína. Sin embargo, los glóbulos rojos normales desempeñan otras funciones como la de servir de fuente de hierro al organismo. Asimismo, la hemoglobina resulta importante a la hora de eliminar el dióxido de carbono del organismo. Los investigadores aún tienen que crear sustitutos de la sangre que puedan desarrollar todas las funciones de la sangre normal. No obstante, estos prometedores productos están aún en desarrollo.

En el año 2000 la República de Sudáfrica se convirtió en el primer país en aprobar un sustituto para la sangre (un producto denominado Hemopure, producido por la corporación Biopure, una empresa de Massachusetts). Pero, ¿cómo se crea la sangre artificial? La sangre artificial es una solución sin células que contiene moléculas que se pueden vincular al oxígeno y transportarlo prácticamente de la misma forma que la hemoglobina normal. Algunos sustitutos sanguíneos como el Hemopure están hechos de hemoglobina de vacuno; otros están hechos de hemoglobina humana. La sangre de vacuno se extrae de la carne de vacuno en los mataderos y después se procesa para purificar la hemoglobina. Otros muchos tipos de sangre artificial en pruebas se producen utilizando fluorocarbonos, sustancias químicas que se unen al oxígeno del mismo modo que la hemoglobina y después liberan oxígeno a los tejidos cercanos. En última instancia, los productos sanguíneos artificiales deben proporcionar alternativas seguras a las transfusiones reales de sangre. Aún queda mucho trabajo por hacer, pero el beneficio potencial de estos productos hace que muchas compañías inviertan mucho dinero y tiempo en desarrollar sustitutos sanguíneos viables.

Vacunas y anticuerpos terapéuticos

En el Capítulo 5 vimos cómo se pueden usar las vacunas para estimular el sistema inmunitario del organismo para producir anticuerpos y proporcionar protección a una persona frente a los microbios infecciosos. En realidad, las vacunas han resultado muy eficaces para protegernos de los patógenos que provocan polio, tétanos, fiebre tifoidea y decenas de otras enfermedades. Como comentamos en el Capítulo 5, el desarrollo de vacunas contra algunos de los patógenos más mortales, como el HIV y la hepatitis, constituye un campo de investigación muy activo e importante.

PyR

P ¿Qué es la compatibilidad sanguínea?

R Hay muchas formas de vincular o clasificar las células sanguíneas. El esquema más común es el sistema de clasificación de sangre ABO. Este sistema se basa en proteínas de superficie denominadas *aglutinógenos,* que se sitúan en la membrana celular de los glóbulos rojos. Se dice que un individuo tiene sangre de tipo A si sus glóbulos rojos tienen el aglutinógeno A (proteína de superficie). Las células sanguíneas de tipo B tienen el aglutinógeno B; las de tipo AB tienen los aglutinógenos A y B, y las de tipo O no tienen ni el aglutinógeno A ni el B. Normalmente se tienen que usar aglutinógenos compatibles para las transfusiones de sangre. Por ejemplo, una persona con sangre de tipo A puede recibir una transfusión con sangre del tipo A, pero no del tipo B. Si un receptor recibe sangre no compatible, los anticuerpos del sistema inmunitario del receptor reconocen los glóbulos rojos de tipo B como extraños y atacan a las células, formando grupos de anticuerpos y glóbulos rojos, lo que puede causar problemas que pongan en peligro la vida del receptor.

Si conoces tu tipo de sangre, sabrás que tienes un tipo ABO determinado y también que tu sangre es «+» o «–». Estas designaciones se refieren a otra proteína de superficie, el factor Rh, llamado así porque se descubrió en los macacos Rhesus. Los glóbulos rojos humanos que tienen el factor Rh son Rh positivo (+) y los glóbulos rojos humanos que no tienen el factor Rh son Rh negativos (–). Los individuos O son donantes universales porque pueden donar a receptores de cualquier tipo sanguíneo. Los individuos AB+ son receptores universales.

Muchos científicos creen que la vacunación será útil frente a enfermedades como el Alzheimer y muchos tipos diferentes de cáncer, si bien las vacunas para estos propósitos siguen estando poco probadas en los humanos. Se están probando las vacunas contra el cáncer a modo de tratamientos no preventivos, pero diseñados para tratar una persona que ya tenga cáncer. Así, se le inyectan antígenos de células cancerígenas a una persona intentando estimular el sistema inmunitario del paciente para atacar las células cancerígenas existentes. De hecho, las expectativas son buenas en cuanto a los nuevos tipos de vacunas de «DNA desnudo» en las que se inyecta DNA de plásmidos que tienen genes codificadores que producen antígenos directamente en los tejidos en los que las células obtienen los plásmidos y liberan los antígenos que estimulan la producción de anticuerpos por parte del organismo. En otras vacunas de DNA se genera una respuesta inmune contra el propio DNA. Recuerda del Capítulo 5 que una vacuna de DNA contra el virus del Nilo Occidental ha resultado efectiva en los caballos. Los investigadores de vacunas creen que este descubrimiento les permitiría obtener nuevas mejoras en el desarrollo de vacunas humanas.

Como vimos en el Capítulo 5, el propósito principal de las vacunas consiste en estimular la producción de anticuerpos por parte del sistema inmune para ayudar a rechazar los agentes extraños. Sin embargo, los propios anticuerpos se pueden usar para tratar una enfermedad en lugar de evitar que los microbios infecciosos provoquen enfermedades. La utilización de anticuerpos en algunos tipos de terapia tiene sentido porque los anticuerpos son muy específicos de las moléculas o patógenos para los que se producen y pueden encontrar y unirse a su diana con gran afinidad. Desde que se desarrollaron en 1975 los **anticuerpos monoclonales (Mab),** anticuerpos purificados que son muy específicos para determinadas moléculas, se han considerado como «balas mágicas» para el tratamiento de enfermedades. Para hacer un Mab, se le inyecta un antígeno purificado a un ratón o una rata para el que los científicos están intentando crear anticuerpos. La Figura 11.11 muestra una producción de Mab específica para proteínas de células cancerígenas del hígado humano. Después de que el ratón genere anticuerpos para el antígeno, un proceso que normalmente lleva varias semanas, se extrae el bazo del animal. El bazo es una rica fuente de anticuerpos que produce linfocitos B o simplemente células B. En una placa de cultivo, las células B se mezclan con células cancerígenas denominadas células de mieloma, que pueden crecer y dividirse de forma indefinida. Con las condiciones adecuadas, un determinado número de células B y células de mieloma se fusionarán para crear células híbridas denominadas **hibridomas.**

Las células de hibridoma crecen rápidamente en cultivos líquidos porque contienen genes que producen anticuerpos a partir de células B. Estas células son literalmente fábricas de anticuerpos. Las células de hibridoma segregan anticuerpos al medio del cultivo líquido que rodea a las células. Se usa un tratamiento químico para seleccionar hibridomas y descartar células de mie-

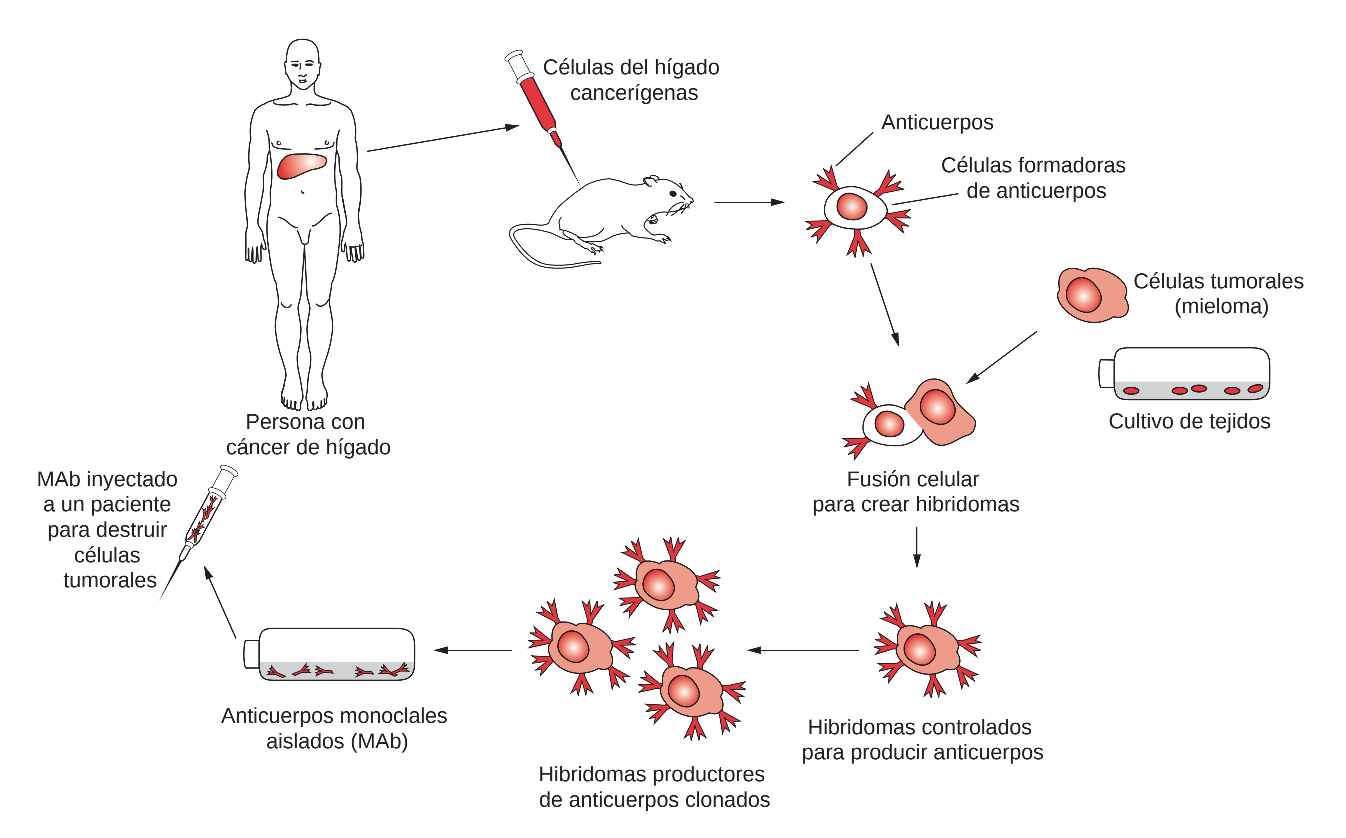


Figura 11.11 Creación de anticuerpos monoclonales

loma y ratón no fusionadas, de forma que los investigadores tengan poblaciones puras de células fusionadas productoras de anticuerpos. Los hibridomas, que son especialmente buenos a la hora de crear grandes cantidades de anticuerpos, se pueden transferir a otras placas de cultivo y congelar a temperaturas ultra bajas, de forma que siempre haya una reserva de células. Los anticuerpos se pueden aislar de los cultivos de hibridoma en grandes grupos haciendo crecer células de hibridoma en cultivos discontinuos mediante biorreactores.

Los anticuerpos monoclonales se pueden inyectar en pacientes en los que buscan y localizan como objetivo a los antígenos para los que fueron producidos. Los Mab de la Figura 11.11 se unirían a las células cancerígenas del hígado y trabajarían en la destrucción del tumor. En 1986 la FDA aprobó el primer anticuerpo monoclonal, OKT3, que fue utilizado para tratar el rechazo al trasplante de órganos. En la década de 1990, se desarrollaron Mab para tratar el cáncer de mama (Herceptín) y el linfoma (rituxán). En la actualidad se usan más de una docena de Mab en todo el mundo para tratar cánceres, enfermedades cardiovasculares, alergias y otras enfermedades. Los científicos incluso ven la posibilidad de adjuntar moléculas radiactivas o químicas a los Mab que tienen como objetivo células dañadas o cancerígenas y utilizar su carga explosiva para matar esas células. Incluso varios grupos han intentado adjuntar Mab a enzimas de veneno de serpiente. Es posible que esta asociación suene muy extraña, pero las proteínas del veneno de serpiente (que pueden matar células mamarias provocando la lisis o ruptura de células) se pueden utilizar para la eliminación selectiva de células tumorales. Si las proteínas del veneno se añaden a un Mab específico para un determinado cáncer, los anticuerpos podrían encontrar las células tumorales y romper las células cancerígenas. Por supuesto, se necesitan muchos estudios para asegurarse de que las proteínas del veneno u otras moléculas adjuntas a los Mab sólo ataquen las células que se pretende, pero este concepto y otros métodos relacionados demuestran el potencial de aplicaciones de los Mab.

La investigación también indica que las estrategias terapéuticas con anticuerpos pueden resultar útiles en el tratamiento de los adictos a drogas dañinas como la cocaína o la nicotina de los cigarrillos. Sólo en Estados Unidos más de 13 millones de personas consumen drogas. Los científicos creen que sería posible estimular la producción de anticuerpos para drogas como la cocaína. La idea consiste en producir anticuerpos que se unan a la droga como el antígeno, atrapando a la droga y evitando que afecte a las células del cerebro. Los anticuerpos monoclonales se han utilizado durante varios años en pruebas comunes de enfermedades como la faringitis, y la mayoría de los tests de embarazo utilizan Mab para detectar hormonas producidas durante el embarazo. Los monoclonales para el tratamiento de enfermedades aún no se han desarrollado plenamente y se han producido algunos contratiempos en este campo. Por ejemplo, el tratamiento con Mab de pacientes de Alzheimer produjo una inflamación grave en varias personas debido a la respuesta de los anticuerpos antirratones en los humanos. Como vimos en el Capítulo 4, los anticuerpos humanizantes alivian algunos problemas con los Mab. Parece que los Mab serán cada vez unas herramientas más útiles para la medicina del siglo XXI. En la próxima sección hablaremos de la terapia génica, un tema controvertido y prometedor de la biotecnología médica.

11.3 Terapia génica

La **terapia génica** consiste en administrar genes terapéuticos en el cuerpo humano para corregir enfermedades debidas a uno o varios genes defectuosos. Pensemos en el impresionante poder y potencial de la terapia génica: proporcionar genes normales a una persona para complementar genes defectuosos y curar enfermedades, o incluso utilizar genes normales para sustituir los defectuosos. ¿Cómo se administran estos genes? ¿Cómo se pueden enviar los genes a los tejidos correctos o los órganos que necesitan tratamiento? ¿Puede la terapia génica resultar eficaz y segura? Estas son las preguntas principales que rodean a la investigación con terapia génica. Tendremos en cuenta estas y otras cuestiones a la vez que daremos una visión general de las estrategias de terapia génica usadas para tratar e intentar curar enfermedades.

¿Cómo se realiza?

Las dos estrategias principales para la administración de genes son la ***terapia génica ex vivo*** y la ***terapia génica in vivo*** (Figura 11.12). En la terapia *ex vivo* (*ex* significa «fuera de») se extraen las células de una persona con una enfermedad, se tratan en el laboratorio utilizando técnicas similares a la transformación bacteriana y después se vuelven a introducir en el paciente. Técnicamente hablando, la introducción de DNA en células de plantas o animales se denomina **transfección.** Por ejemplo, las células del hígado de un paciente con trastornos en el hígado se extraerían de forma quirúrgica y se cultivarían. Después los genes terapéuticos apropiados se introducirían en estas células mediante vectores y otros métodos que discutiremos en la siguiente sección. Entonces estas células del hígado alteradas genéticamente se volverían a introducir en el paciente sin miedo al rechazo del trasplante de tejido porque las células son del propio paciente (Figura 11.12).

La terapia génica *in vivo* consiste en introducir genes directamente en tejidos y órganos del organismo sin extraer células corporales (Figura 11.12). Uno de los retos de la terapia génica *in vivo* consiste en administrar genes sólo en los tejidos que se desea y no en otros tejidos del organismo. Los científicos se han basado fundamentalmente en la utilización de virus a modo de vectores para administrar genes, pero en algunos casos se han inyectado de forma directa en algunos tejidos. Hasta ahora los métodos *ex vivo* han resultado más efectivos que los *in vivo.*

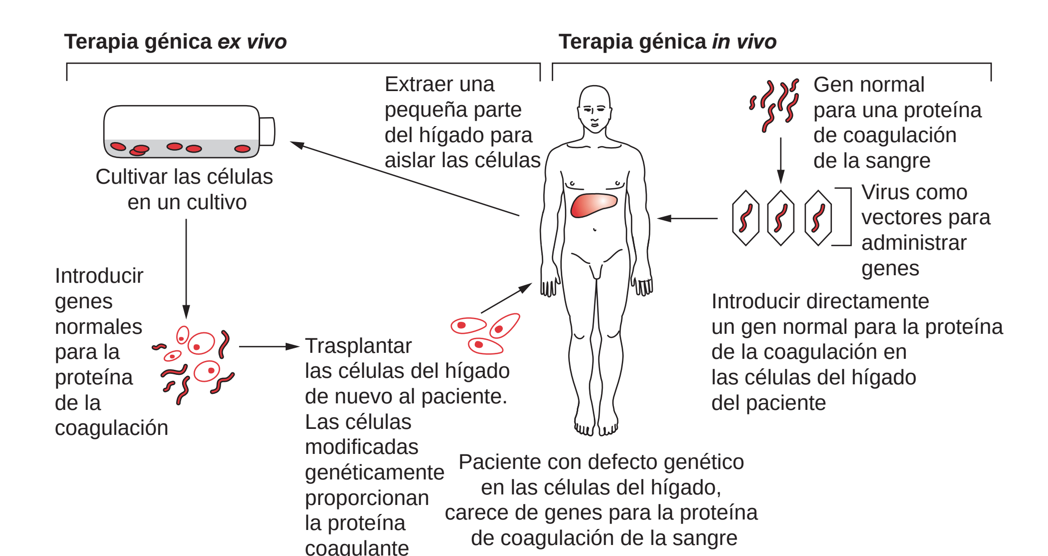


Figura 11.12 Terapia génica *ex vivo* e *in vivo* en un paciente con trastorno del hígado La terapia génica *ex vivo* consiste en aislar células del paciente, introduciendo genes normales para la proteína de la coagulación en estas células y después trasplantar las células de nuevo al organismo, donde estas células producirán la proteína necesaria para la coagulación. La terapia génica *in vivo* consiste en introducir directamente DNA en las células mientras se encuentren en el paciente. En cualquiera de los modos de la terapia génica los genes se pueden introducir en las células como DNA empaquetado en virus como vectores o DNA desnudo.

Suministro de carga explosiva: vectores para la administración de genes

El principal reto que se debe superar si la terapia génica se tiene que convertir en una herramienta fiable para tratar enfermedades es conseguir una forma segura y efectiva de administrar genes terapéuticos (la carga explosiva). En función de la enfermedad genética que se deba tratar, algunas estrategias terapéuticas podrían requerir la aplicación de un gen correctivo a largo plazo, mientras que otras pueden requerir períodos de tiempo más cortos. ¿Cómo se puede aplicar y administrar genes para producir cantidades adecuadas de proteínas para corregir la enfermedad? La mayoría de estrategias de administración de genes, tanto *ex vivo* como *in vivo*, se basan en virus como vectores para introducir genes terapéuticos en células.

Un vector viral usaría un genoma viral para transportar un gen terapéutico para «infectar» células del organismo humano, introduciendo así el gen terapéutico. Los científicos han tenido en cuenta varios virus como los **adenovirus,** que provocan el catarro común; los virus de la gripe y los virus del herpes, que pueden provocar herpes labiales y algunos provocan enfermedades de transmisión sexual, como **vectores** potenciales para la administración de genes. Incluso el virus 1 de la inmunodeficiencia humana se ha considerado como un vector de terapia génica. Para que funcione cualquier vector viral, los científicos tienen que estar seguros de que estos vectores han sido diseñados genéticamente y desactivados, de forma que no produzcan enfermedades ni las extiendan por el organismo e infecten otros tejidos.

La mayoría de los virus infectan las células del organismo humano uniéndose y penetrando en las células y después liberando su material genético en el núcleo o citoplasma de la célula humana. A menudo se trata de DNA, pero algunos virus contienen un genoma RNA. Entonces, la célula humana infectada sirve como huésped para reproducir el genoma viral y producir RNA y proteínas virales. Las proteínas virales a la larga se acaban juntando para crear más partículas virales que salen de la célula huésped y así quedan libres para infectar otras células y repetir el ciclo de la vida.

Puede parecer extraño que pensemos en los virus para transportar genes para curar enfermedades humanas. Sin embargo, los científicos se han dado cuenta de que muchos virus dañinos son eficaces a la hora de introducir su genoma en las células. Se dieron cuenta de que si estos virus se pudieran alterar genéticamente para administrar genes terapéuticos de una forma segura, podríamos utilizar virus para propósitos beneficiosos. Los virus están perfectamente diseñados en muchos sentidos como vehículos o vectores de terapia génica para administrar genes. Por ejemplo, los adenovirus (con los que entre un 80 y 90 por ciento de la población de los niños se ha infectado, ya que provocan el catarro común) pueden infectar muchos tipos de células corporales de una forma bastante eficiente. Los retrovirus como el lentivirus e incluso el HIV resultan interesantes como vectores, dado que copian su genoma RNA en el DNA al entrar en la célula huésped y después introducen de forma aleatoria su DNA en el genoma de una célula huésped, donde se queda de forma permanente, un proceso denominado **integración.** Una de las ventajas de utilizar retrovirus para administrar genes reside en que pueden integrar genes terapéuticos en el DNA de las células huésped humanas, permitiendo la introducción permanente de genes en los cromosomas de las células de un paciente como una forma de proporcionar una terapia génica duradera.

Asimismo, se han estudiado los virus detalladamente como vectores de terapia génica debido a que algunos virus sólo infectan determinadas células del organismo. Esto podría permitir la terapia génica *dirigida* (la capacidad de administrar genes sólo a los tejidos infectados por un determinado virus). Por ejemplo, una cepa del virus del herpes (HSV-1) infecta principalmente a las células del sistema nervioso central. Esta cepa es un candidato para la terapia génica dirigida a las células del sistema nervioso, que pueden resultar una forma eficaz de tratar

trastornos genéticos del cerebro, tales como las enfermedades de Alzheimer y Parkinson. Asimismo, los científicos están investigando formas de utilizar los virus del herpes modificados genéticamente para destruir tumores cerebrales. Las pruebas preliminares de este método en humanos han resultado prometedoras.

La mayoría de las células humanas no asimilan DNA fácilmente. Si lo hicieran, sería posible transfectar células simplemente mezclándolas con DNA en un tubo, de una forma muy parecida a la transformación que se obtiene con las células bacterianas. Sin embargo, se ha obtenido cierto éxito tanto en estrategias *in vivo* como *ex vivo* mediante el «DNA desnudo». El DNA desnudo es simplemente DNA, sin un vector viral que se inyecte directamente en los tejidos corporales. Los pequeños plásmidos que contienen genes terapéuticos a menudo se utilizan para este método. Las células de determinados tejidos absorberán parte del DNA desnudo y expulsarán genes administrados de esta forma. Las técnicas de administración de DNA desnudo han resultado más efectivas en órganos como el hígado y los músculos (Figura 11.13). Uno de los principales problemas de transfectar células humanas *in vivo* consiste en que, debido a que un número relativamente pequeño de células toman el DNA inyectado, resulta posible que no haya suficientes células que expresen el gen terapéutico para que la terapia génica tenga algún efecto en el tejido. Los científicos están trabajando para superar estos problemas y administrar DNA desnudo de forma más efectiva. Por ejemplo, la electroporación (recuerda que en el Capítulo 5 tratamos cómo se utiliza la estimulación eléctrica para mover los plásmidos a las células bacterianas) se puede usar para estimular el movimiento del DNA a las células.

Un método que puede resultar prometedor para administrar DNA sin vectores virales comprende unas estructuras denominadas liposomas. Los **liposomas** son microesferas huecas de pequeño diámetro hechas de moléculas de lípidos, semejantes a las moléculas de grasa presentes en las membranas celulares. Los liposomas se empaquetan con genes y se inyectan en los tejidos o se aplican con un spray (en la próxima sección veremos cómo se ha utilizado este método para tratar la fibrosis quística). Una técnica similar consiste en cubrir diminutas partículas de oro con DNA y después disparar estas partículas dentro de las células mediante una pistola de DNA. Una pistola de DNA es una pistola de aire comprimido que dispara partículas de oro o liposomas a través de las membranas celulares sin matar la mayoría de las células. También se están estudiando las partículas de gelatina biodegradable como vectores transportadores de genes.

Otra tecnología con la que los científicos están haciendo pruebas para administrar genes terapéuticos es la ingeniería y la construcción de los denominados cromosomas artificiales. Esta técnica consiste en crear pequeños cromosomas compuestos principalmente de DNA que no codifica para proteínas, el cual contiene un gen terapéutico. La clave de este método consiste en que el cromosoma artificial contiene estructuras similares a los cromosomas humanos normales que permiten una incorporación permanente a las células y la replicación.

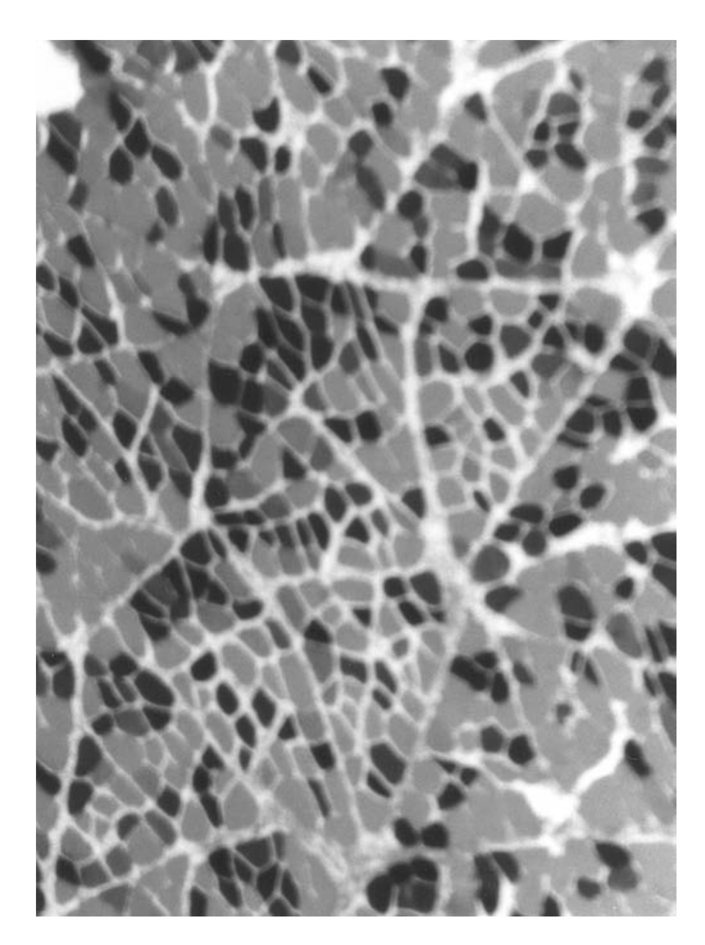


Figura 11.13 **Administración de DNA desnudo** Algunos tejidos, como el tejido muscular que se muestra en esta figura, pueden absorber DNA desnudo que se ha inyectado en el tejido. Las células oscuras han asimilado y expresado un gen administrado en un plásmido. Las células claras no han asimilado este gen. Los científicos están trabajando para superar este obstáculo. Dado que muchas células no absorben DNA desnudo, esta técnica a menudo no resulta muy eficiente.

La tecnología RNA antisentido y RNA de interferencia para la terapia génica

Recuerda que en el Capítulo 3 tratamos el uso de la **tecnología RNA antisentido** como una forma de bloquear la traducción de moléculas mRNA para silenciar la expresión de genes. Este método se utilizó para crear el tomate Flavr Savr (véase la Figura 6.7). El concepto básico de la tecnología RNA antisentido consiste en diseñar una molécula de RNA que actúe como un par de bases complementario al mRNA que se desea inhibir, evitando así que se traduzca en una proteína (Figura 11.14). Este método de dejar sin efecto un gen se denomina a menudo **silenciamiento de RNA** o **de genes.** Desde que se desarrollaron las tecnologías RNA antisentido en la década de 1970, los científicos han pensado que los métodos de silenciamiento de RNA resultarían prometedores a la hora de dejar sin efecto los genes causantes de enfermedades como un método de terapia génica.

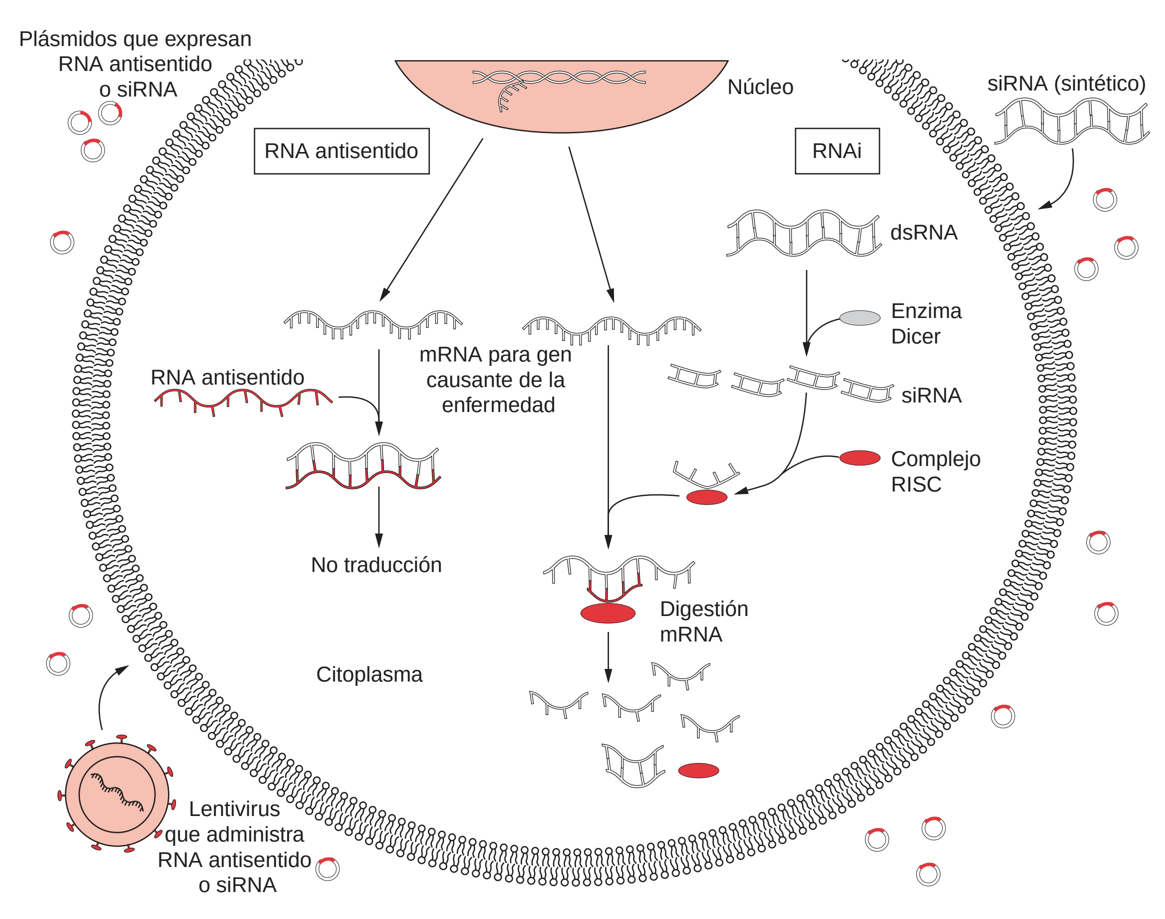


Figura 11.14 Métodos de RNA antisentido y RNAi para terapia génica mediante silenciamiento genético Las tecnologías antisentido y RNAi son dos formas de silenciar la expresión de genes y dejar fuera de juego los genes causantes de enfermedades. En la tecnología antisentido (izquierda) una molécula RNA antisentido se une al mRNA para el gen causante de la enfermedad y evita que éste se traduzca a proteína. Con la tecnología RNAi se administran moléculas RNA de doble hélice (dsRNA) en la célula. Después la enzima Dicer parte las dsRNA en RNA cortes de interferencia (siRNA) a las que acompaña el complejo proteínico RISC para unirlo a su mRNA diana provocando su degradación y por tanto evitando la traducción.

Los RNA antisentido se han utilizado de forma efectiva para el silenciamiento de genes en células cultivadas, pero esta tecnología aún tiene que hacer realidad su promesa de servir como tratamiento de enfermedades. La reciente aparición de la **RNA de interferencia (RNAi)** ha reforzado los métodos de terapia génica mediante el silenciamiento genético (consulta la Figura 3.20). Mediante el RNAi, las moléculas de RNA de doble hélice se administran en las células donde la enzima Dicer las corta en fragmentos de 21 nt de largo denominados **RNA pequeño de interferencia (siRNA;** Figura 11.14). Después los siRNA se unen a un complejo de enzimas denominado **complejo silenciador inducido por RNA (RISC)** que transporta los siRNA a su mRNA diana, donde se unen mediante emparejamiento de bases complementarias. El complejo RISC degrada el siRNA unido al mRNA, de forma que no se puedan traducir en proteínas.

Hasta ahora el principal reto de los tratamientos terapéuticos basados en RNAi ha consistido en administrar RNA antisentido, dsRNA o siRNA *in vivo.* Los RNA se degradan rápidamente en el organismo. Asimismo, resulta difícil que penetren en las células y acierten en el tejido correcto. Dos métodos comunes de administración consisten en inyectar el RNA antisentido o el siRNA directamente o como un plásmido vector que las células toman para ser transcritas para crear moléculas antisentido o RNAi (Figura 11.14). También se emplean los liposomas, mecanismos de administración de lentivirus y acoplamientos de siRNA al colesterol y ácidos grasos para administrar RNA silenciadores. Otro problema reside en el hecho de que la mayoría de las enfermedades complejas no están provocadas sólo por un gen. Por ejemplo, como mencionamos anteriormente en este capítulo, el gen *BCL-2* está sobreexpresado en cerca de un 50 por ciento de los casos de cáncer de mama, y la tecnología de RNA antisentido puede silenciar este gen *in vitro,* pero el cáncer de mama es una enfermedad multigénica y aún no es posible silenciar todos los genes que intervienen en el cáncer de mama.

En Estados Unidos se están llevando a cabo un gran número de ensayos clínicos de RNAi y antisentido para tratar la ceguera. Uno de ellos, denominado degeneración macular, tiene como objetivo un gen denominado *VEGF.* La proteína codificada por *VEGF* facilita el crecimiento de los vasos sanguíneos. La sobreexpresión de

este gen que conduce a una producción excesiva de vasos sanguíneos en la retina lleva a una visión deficiente y finalmente a la ceguera. Muchos creen que esta enfermedad se convertirá pronto en la primera enfermedad tratada mediante terapia siRNA. Otras enfermedades tratables podrían ser diferentes tipos de cáncer, gripe (los científicos han tenido éxito al bloquear infecciones gripales en los pulmones de ratones), diabetes, esclerosis múltiple, artritis y enfermedades neurodegenerativas.

Curación de enfermedades genéticas: objetivos de la terapia génica

La mayoría de los investigadores de la terapia génica se están centrando en los trastornos genéticos provocados por mutaciones o deficiencias de un único gen (como la drepanocitosis) porque en teoría estas enfermedades se pueden curar más fácilmente mediante terapia génica que las enfermedades provocadas por múltiples genes que deben interactuar de forma compleja. Las estimaciones actuales indican que puede haber más de 3.000 enfermedades genéticas humanas provocadas por un solo gen. La Tabla 11.1 de la página 267 muestra muchas de las enfermedades que son candidatas en potencia para un tratamiento mediante terapia génica. Los ensayos recientes para tratar la sordera, la artritis y la ceguera han resultado bastante esperanzadores. A continuación expondremos un par de ejemplos de la terapia génica en acción.

La primera terapia génica humana

Un grupo de investigadores y médicos del National Institute of Health in Bethesda, Maryland, liderado por W. French Anderson, R. Michael Blaese y Kenneth Culver realizó la primera terapia génica humana en 1990. El paciente, la niña de cuatro años Ashanti Da Silva, presentaba un trastorno genético denominado **inmunodeficiencia combinada grave (SCID).** Los pacientes que presentan SCID carecen de un sistema inmune que funcione correctamente porque tienen un fallo en un gen denominado adenosina deaminasa (ADA). La ADA produce una enzima que interviene en el metabolismo del nucleótido trifosfato de deoxiadenosina (dATP). Una mutación del gen ADA da como resultado la acumulación de dATP, el cual resulta tóxico en altas concentraciones para determinados tipos de células T, dando como resultado la pérdida casi completa de estas células en el paciente con SCID. Esta enfermedad recibe el nombre apropiado de inmunodeficiencia «combinada grave» porque las mutaciones del gen ADA generan un bloqueo de la capacidad del sistema inmune para crear anticuerpos y combatir las enfermedades. Sin células T en funcionamiento, las células B no pueden reconocer antígenos y crear anticuerpos. Antes de las estrategias de terapia génica, la mayoría de los pacientes con SCID no superaban la adolescencia porque sus sistemas inmunes no podían combatir las infecciones de microbios.

Para tratar a Ashanti, se clonó el gen normal de ADA en un vector que después se introdujo en un retrovirus que se había desactivado para no ser patógeno. Se utilizó un método de terapia génica *ex vivo* en el que se aisló un pequeño número de células T de la sangre de Ashanti y se cultivó en el laboratorio. Se infectaron sus células T con el gen ADA que contenía el retrovirus y las células T infectadas se continuaron cultivando. Dado que los retrovirus integran su genoma en el genoma de las células huésped, el retrovirus estaba integrando el gen ADA normal en los cromosomas de las células T de Ashanti durante este cultivo. Tras un pequeño período de cultivo, estas células T que contenían ADA se volvieron a introducir en Ashanti (Figura 11.15).

Ashanti recibió numerosos tratamientos. Un par de meses después de la terapia génica la cantidad de células T comenzó a crecer. Después de dos años, la actividad de las enzimas ADA de Ashanti era relativamente alta y mostraba cantidades casi normales de células T, con entre el 20 y el 25 por ciento de sus células T con el gen ADA añadido. En la actualidad Ashanti goza de una vida sana. Desde que se trató a Ashanti, la terapia génica ha reparado con éxito el sistema inmune de más de dos decenas de niños con SCID.

Tratamiento de la fibrosis quística

La fibrosis quística (CF) es una de las enfermedades genéticas más comunes. Cada año nacen cerca de 1.000 niños con CF en Estados Unidos, y en la actualidad más de 30.000 personas padecen esta enfermedad en ese país. Esta enfermedad se produce cuando una persona presenta dos copias defectuosas de un gen que codifica una proteína denominada **regulador de la conductancia transmembrana de fibrosis quística (CFTR).** La proteína normal del *CFTR* actúa a modo de bomba en la membrana celular para mover átomos de cloruro (iones) cargados eléctricamente fuera de las células. Los iones de cloruro penetran en las células de multitud de formas y son necesarios para numerosas reacciones celulares. El CFTR resulta importante para mantener el equilibrio apropiado de cloruro dentro de las células. Las mutaciones del gen *CFTR*, que pueden provocar la ausencia total de la proteína o dar como resultado una proteína defectuosa, son responsables de la CF. Se han detectado más de 500 mutaciones en el gen *CFTR* que puede causar CF.

El CFTR se produce por células de muchas zonas del organismo, entre las que se incluye la piel, el páncreas, el hígado, el tracto digestivo, el tracto reproductivo masculino y el tracto respiratorio (tráquea y bronquios). Un mal funcionamiento o la ausencia de CFTR provoca un desequilibrio en los iones de cloruro de dentro de las células porque el CFTR defectuoso no saca estos iones (Figura 11.16). En órganos como la tráquea, la acumulación de iones de cloruro en estas células provoca una mucosidad viscosa extremadamente densa que tapona las vías respiratorias. Esto se produce porque el agua se mueve hacia las células ricas en cloruro en un intento de equilibrar las concentraciones de cloruro dentro de las células. Normalmente la mucosidad de la tráquea ayuda a expulsar el polvo y las partículas fuera de las vías respiratorias para

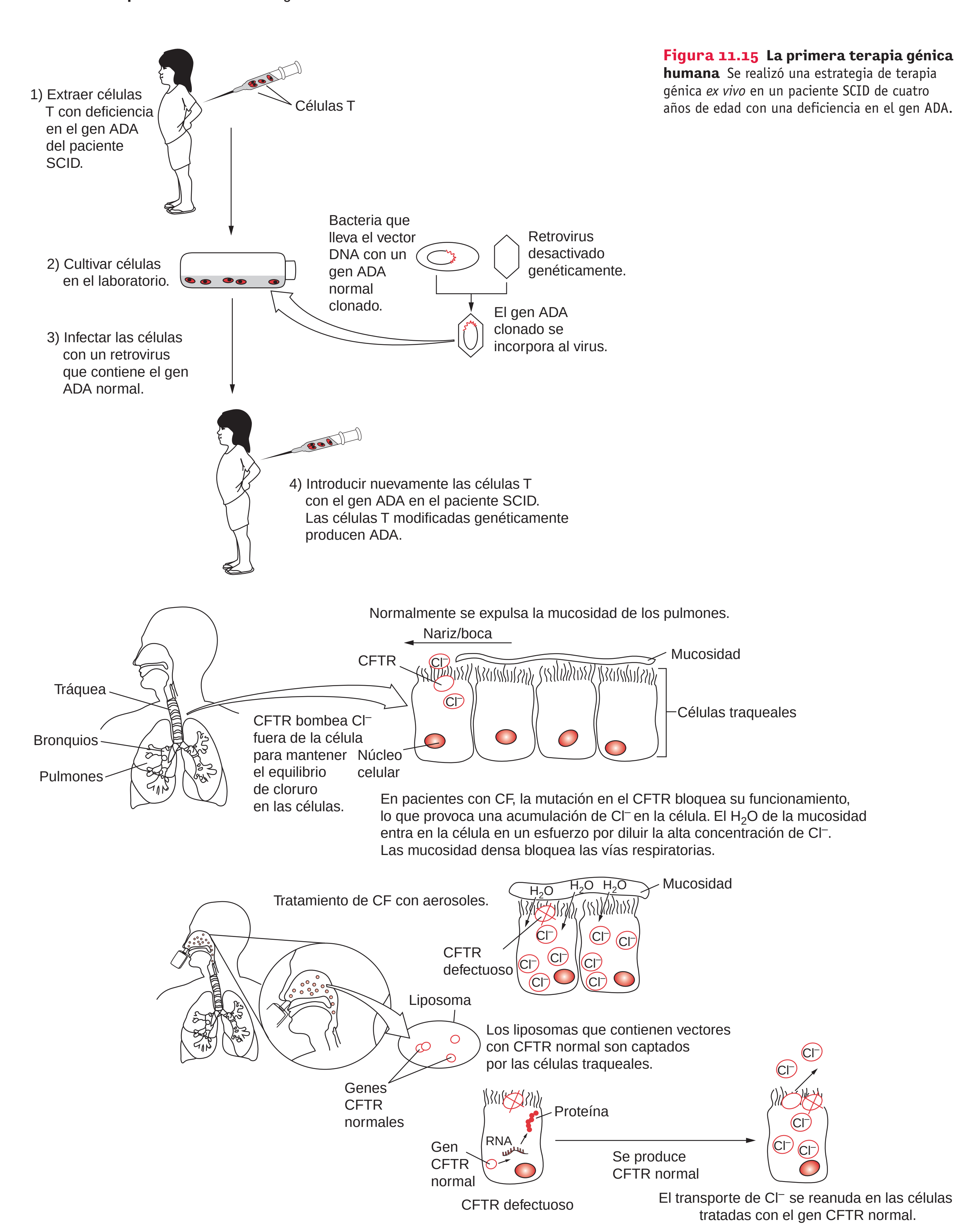


Figura 11.15 La primera terapia génica humana Se realizó una estrategia de terapia génica *ex vivo* en un paciente SCID de cuatro años de edad con una deficiencia en el gen ADA.

Figura 11.16 Tratamiento de la fibrosis quística mediante la terapia génica

evitar que alcancen los pulmones. No obstante, cuando el agua entra en las células de la tráquea, la mucosidad se vuelve extremadamente densa. Además de bloquear las vías respiratorias, la mucosidad proporciona un entorno ideal para que crezcan los microbios. Por consiguiente, los pacientes con CF padecen infecciones de bacterias como la *Pseudomonas.*

Las infecciones de las vías respiratorias y los pulmones pueden provocar neumonía y fallo respiratorio, la causa principal de muerte en los pacientes con CF. Existen efectos similares en muchos otros órganos del organismo. Los varones padecen infertilidad debido a problemas relacionados con el transporte de iones en los órganos reproductores masculinos, y tanto hombres como mujeres tienen un sudor extremadamente salado debido a anomalías en el transporte de iones en las glándulas del sudor. De hecho, antes del descubrimiento del gen *CFTR,* una prueba de sudor fue el estándar que se utilizó para diagnosticar CF y se sigue usando aún hoy.

Los tratamientos para pacientes con CF varían desde dar palmadas en la espalda (sujetar al paciente boca abajo y palmearle la espalda) y cambiar de posición el cuerpo del paciente para extraer la mucosidad de los pulmones, hasta utilizar fármacos para diluir la mucosidad y un tratamiento antibiótico para combatir las infecciones. Sin embargo, no existe cura para la CF. Esta enfermedad a menudo provoca la muerte a causa del mal funcionamiento de los pulmones e infecciones respiratorias a edades tempranas, y cerca de la mitad de los pacientes de CF mueren antes de los 31 años de edad. En los últimos años las nuevas formas de tratamiento han permitido a estos pacientes llegar bien a la edad adulta. Una forma de terapia génica ha ayudado a algunos pacientes. En 1989 se descubrió el gen *CFTR* y poco después los científicos comenzaron a realizar ensayos de terapia génica mediante la introducción del gen *CFTR* normal en liposomas y la administración de éstos con un spray en la nariz y la boca de los pacientes de CF a modo de aerosol o mediante la administración de liposomas en las vías respiratorias mediante un tubo (Figura 11.16). Los liposomas se funden con los lípidos en las membranas celulares de las células traqueales, liberando el gen *CFTR* normal en el citoplasma de éstas. El gen *CFTR* normal se copia en mRNA y la proteína normal se traduce. La proteína *CFTR* normal entra en las membranas celulares y comienza a transportar iones de cloruro fuera de las células, diluyendo así la mucosidad y aliviando los síntomas de la CF.

La terapia génica para la CF aún no es un tratamiento fiable. Resulta caro, ya que requiere muchas reaplicaciones porque el DNA administrado a través de liposomas no se integra en los cromosomas. Cada vez que las células traqueales se dividen, y se dividen rápidamente, se pierden los genes administrados y se requiere volver a aplicarlos con un spray. No todas las células permiten la entrada de los liposomas que contienen *CFTR.* Incluso resulta posible que las células que contienen el gen administrado no puedan producir suficientes proteínas CFTR para que se produzca un transporte adecuado de iones de cloruro. Asimismo, ha habido problemas con la proteína CFTR expresada, dada su toxicidad para las células. Aunque aún no hay una cura para la CF a través de terapia génica, los científicos están avanzando con estrategias que podrían dar como resultado finalmente la introducción permanente del gen normal o a la corrección del *CFTR* defectuoso en un intento por mejorar considerablemente la vida de las personas con CF.

Retos a los que se enfrenta la terapia génica

Los científicos siempre han estado preocupados por los riesgos asociados a la terapia génica y la seguridad de estos procedimientos. Los debates acerca de la seguridad se han intensificado en gran medida desde que un voluntario de 18 años llamado Jesse Gelsinger muriera durante un ensayo clínico de terapia génica en la Universidad de Pensilvania en 1999. La muerte de Jesse se atribuyó directamente a complicaciones relacionadas con el vector del adenovirus utilizado para administrar genes terapéuticos para tratar un trastorno genético que padecía (deficiencia de ornitina transcarbamilasa), el cual afectó a su capacidad de descomponer los aminoácidos alimenticios.

Se han realizado más de 500 ensayos clínicos de terapia génica en todo el mundo, una gran mayoría en Estados Unidos, y se están realizando más de 600 ensayos en 20 países. Jesse Gelsinger fue la primera persona en morir como resultado de un ensayo clínico de terapia génica. Su muerte generó más preguntas sobre la utilización de vectores virales, puso un mayor énfasis en el desarrollo de vectores no virales e hizo un llamamiento a realizar mayores controles y a tener restricciones más estrictas en los ensayos clínicos de terapia génica.

En 2002 aumentó más la preocupación acerca de los métodos de terapia génica que emplean retrovirus como resultado de los ensayos de terapia génica realizados en Francia para tratar el síndrome de inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X (SCID-X). En este ensayo 3 de los 11 niños que se trataron desarrollaron leucemia a causa de la terapia y uno de estos niños murió en 2004. Habían recibido inyecciones de células de médula ósea tratadas *ex vivo* que se habían tratado con un gen terapéutico administrado por un retrovirus. Los niños tenían entre 1 y 3 meses en el momento del tratamiento y habían vuelto a casa con normalidad, aparentemente curados hasta que desarrollaron un cáncer semejante a la leucemia cerca de dos años y medio después de la terapia. El cáncer fue provocado por vectores de retrovirus que en la terapia génica se integran aleatoriamente en localizaciones críticas del genoma que contienen la región del promotor de un gen llamado *LM02,* el cual codifica un factor de transcripción requerido para la formación normal de los leucocitos. Esta integración dio como resultado una transcripción errónea del gen *LM02* y una sobreexpresión del *LM02* que inició una división descontrolada de células T maduras. Esta tragedia dio como resultado el cese temporal de un gran número de ensayos de terapia génica y la FDA estadounidense paró por completo la mayoría de los estudios retrovirales. Finalmente los ensayos

se reanudaron, si bien con un mayor control de los pacientes.

En la actualidad existen más barreras para la terapia génica que soluciones a los problemas médicos:

- ¿Cómo se puede controlar la expresión del gen terapéutico en el paciente? Para muchas células, un funcionamiento normal requiere que se produzcan las cantidades correctas de las proteínas fundamentales en el momento preciso. ¿Qué ocurre si hay una sobreexpresión de genes terapéuticos o si un gen no actúa al poco tiempo de haberse introducido?
- ¿Cómo pueden los científicos seleccionar de forma eficiente y segura sólo las células que precisan del gen terapéutico sin afectar a otras células del organismo que no necesitan ese gen?
- ¿Cómo puede la terapia génica dirigirse a regiones específicas del genoma para evitar los problemas de integración aleatoria descubiertos en los ensayos realizados en Francia o la inestabilidad y el movimiento del DNA insertado?
- ¿Cómo puede la terapia génica proporcionar un tratamiento duradero y permanente sin tener que administrar continuamente el gen terapéutico?
- ¿Cómo se puede evitar el rechazo del gen terapéutico? Cuando se utiliza la terapia génica, no siempre se sabe si el sistema inmune del receptor rechazará la proteína producida por los genes terapéuticos o si rechazará las células modificadas genéticamente que contienen genes terapéuticos.
- ¿Cuántas células deben expresar el gen terapéutico para tratar la enfermedad de forma efectiva? Variará en función de la enfermedad, pero aún hay que determinar si se debe afectar a la mayoría de las células enfermas con el gen terapéutico o si una enfermedad se puede tratar sólo mediante la corrección de un pequeño número de células.

Estas y otras barreras se deben superar antes de que la terapia génica se convierta en un tratamiento seguro y fiable, aunque los científicos están realizando importantes avances en este campo. Asimismo, están realizando avances increíblemente rápidos en otras áreas de interés de la biotecnología médica denominada medicina regenerativa, el tema de la siguiente sección de este capítulo.

11.4 El potencial de la medicina regenerativa

En la actualidad los médicos que tratan enfermedades humanas se encuentran fundamentalmente limitados a métodos como técnicas quirúrgicas, tratamientos de radiación y terapia con fármacos. Aunque todos estos métodos tienen su lugar en la medicina, las pastillas por ejemplo, generalmente no son la respuesta a la *cura* de enfermedades humanas y realmente no ofrecen la capacidad de regenerar tejido o recuperar el funcionamiento de los órganos dañados. Por ejemplo, cuando una persona padece una afección como un infarto o un ictus, a menudo se produce un daño en los tejidos. Cuando un órgano resulta dañado, la única forma de recuperar el funcionamiento total del órgano es sustituir el tejido dañado con nuevas células, algo que a menudo no se produce de forma natural en el tejido del corazón y el cerebro.

Cuando se produce el desarrollo de los órganos en el embrión, se deben producir cambios en la expresión de muchos genes siguiendo una secuencia ordenada. Los cambios se producen en células que incluso los fármacos no pueden fijar y ningún fármaco puede estimular el crecimiento y reparar el nuevo tejido cuando un órgano resulta gravemente dañado. Incluso con la nueva información obtenida del Proyecto del Genoma Humano, resulta muy improbable que se pueda utilizar algún fármaco para estimular los cientos de cambios en la expresión de los genes con la secuencia oportuna necesaria para la regeneración de tejidos y la recuperación del funcionamiento de los órganos.

La **medicina regenerativa,** células y tejidos cultivados que se pueden utilizar para sustituir o reparar los órganos y tejidos defectuosos, es un nuevo y apasionante campo de la biotecnología que mantiene la esperanza y el potencial de cambiar de forma radical la medicina y los cuidados sanitarios. La mayoría de los investigadores están de acuerdo con que el objetivo de la medicina regenerativa no consiste en alargar la esperanza de vida humana ni alcanzar la inmortalidad, pero sí mejorar la calidad de vida de las personas.

Trasplante de células y tejidos

El trasplante de órganos no es una idea nueva, pero las aplicaciones que comprenden el trasplante de células y tejidos específicos para sustituir y reparar los tejidos dañados constituyen aspectos relativamente nuevos de la investigación en la biotecnología médica.

Injertos de tejido fetal

Las enfermedades neurodegenerativas se producen de forma gradual, dando como resultado la pérdida progresiva de funciones cerebrales a lo largo del tiempo. Las enfermedades de Alzheimer y Parkinson son quizás los dos ejemplos más conocidos. Las enfermedades ocupan el primer y segundo puesto, respectivamente, como las enfermedades neurodegenerativas más comunes. Sólo en el caso del Parkinson, se diagnostican cada año cerca de 50.000 nuevos casos, y aproximadamente 500.000 estadounidenses padecen la enfermedad en este momento. La enfermedad de Parkinson viene provocada por la pérdida de células en una zona muy profunda del cerebro denominada *substantia nigra.* Las neuronas de esta región producen una sustancia química denominada *dopamina,* que es un neurotransmisor, es decir, una sustancia química utilizada por las neuronas (células nerviosas) para

comunicarse entre sí. La pérdida de estas células productoras de dopamina provoca, entre otros efectos, temblores, debilidad, desequilibrios, pérdida de destreza, rigidez muscular, reducción del sentido del olfato, incapacidad de tragar y problemas en el habla. La mayoría de los tratamientos comprenden fármacos que aumentan la producción o la acumulación de dopamina en el cerebro. Sin embargo, después de entre 4 y 10 años de tratamiento, la enfermedad avanza y la efectividad de estos fármacos disminuye, lo que provoca una mala calidad de vida para el paciente, que normalmente fallece a causa de complicaciones relacionadas con la enfermedad.

A diferencia de las neuronas fetales, que se pueden dividir, la mayoría de las neuronas adultas no se reparan cuando resultan dañadas y no se dividen. Durante mucho tiempo los científicos utilizaban trasplantes de neuronas fetales para tratar la enfermedad de Parkinson y otras enfermedades neurológicas. La idea principal consiste en introducir neuronas fetales con la esperanza de que estas células puedan establecer conexiones con otras neuronas, en un intento de sustituir las células cerebrales dañadas y restaurar el funcionamiento cerebral. Tras comprobar el éxito con roedores, se han utilizado trasplantes de tejido fetal desde finales de la década de 1980 y más de 100 pacientes han recibido estos trasplantes. En este procedimiento los médicos suelen practicar un agujero en el cráneo e inyectar quirúrgicamente neuronas en las zonas del cerebro más afectadas. La mayor parte del tejido fetal humano proviene de embriones o fetos obtenidos de víctimas accidentadas y de abortos inducidos legalmente. Los pacientes que reciben trasplantes fetales muestran distintos niveles de mejora, entre los que se incluye el alivio de los síntomas del Parkinson en más del 40 por ciento y en algunos casos la eliminación casi total de la mayoría de los síntomas, incluso varios años después. Los trasplantes fetales no han conseguido recuperaciones totales.

Desde el año 2001, más de 250.000 individuos se han visto afectados por una parálisis como consecuencia de un traumatismo en la médula espinal y cerca de 2 millones de personas en todo el mundo viven con lesiones de médula. Cada año cerca de 85.000 personas sufren lesiones en la médula espinal, entre las que se encuentran cerca de 10.000 personas en Estados Unidos. La lesión se puede producir por aplastamiento de la médula o por daños en las fibras nerviosas. En función del tipo de daño, se puede producir paraplejia, es decir, parálisis de las extremidades inferiores, o tetraplejia, parálisis del cuerpo desde el cuello hasta abajo, dependiendo del lugar donde se haya producido la lesión. Se han intentado distintas estrategias para reparar las lesiones de médula espinal. Uno de los métodos consiste en injertar fibras nerviosas de neuronas fetales o adultas en la zona dañada de la médula espinal en un intento de reparar las conexiones medulares (Figura 11.17). Estos implantes reparadores han resultado prometedores en perros y ratas. A medida que los científicos aprenden más acerca de las sustancias químicas inflamatorias que impiden el crecimiento de los nervios y los factores que estimulan el crecimiento de

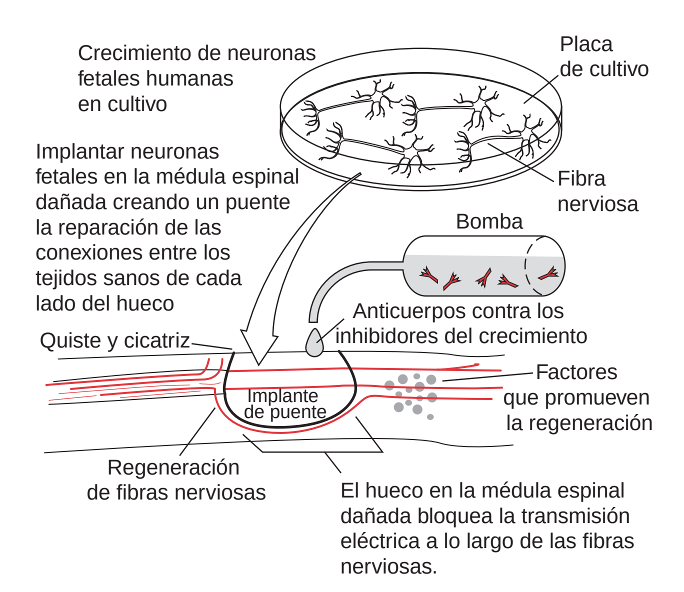


Figura 11.17 **Reparación de huecos** En muchos tipos de lesiones de médula espinal se produce un hueco cuando se daña la médula espinal. Esto bloquea la transmisión eléctrica de los impulsos nerviosos y puede dar como resultado parálisis y pérdida de las sensaciones del cuerpo como la temperatura, el dolor o el tacto. Una de las estrategias experimentales para reparar lesiones de médula espinal consiste en implantar neuronas fetales en las zonas dañadas de la médula espinal para reparar las conexiones entre las neuronas normales. Los científicos utilizan esta estrategia junto con anticuerpos que pueden bloquear las sustancias químicas que evitan la reparación de la médula espinal y factores de crecimiento que pueden estimular la regeneración de neuronas en un intento de reparar los huecos de las lesiones de médula espinal.

éstos, es posible utilizar dichas moléculas para minimizar la formación de tejido cicatrizado, reducir el daño provocado por el tejido cicatricial de las células de apoyo denominadas células gliales, bloquear las moléculas inhibidoras del crecimiento y estimular la regeneración de neuronas al mismo tiempo.

El trasplante de órganos

El trasplante de órganos puede salvar y de hecho salva vidas. Cerca de 8 millones de operaciones quirúrgicas relacionadas con daños en tejidos y fallo de órganos se realizan en Estados Unidos cada año, pero cerca de 4.000 personas mueren cada año mientras esperan un trasplante de órgano. Al menos 100.000 personas mueren cada año sin ni siquiera figurar en la lista de espera. Se gasta más de 400.000 millones de dólares en Estados Unidos. en tratamientos sanitarios relacionados con el fallo orgánico y los daños en tejidos. Esta suma supone cerca de la mitad del gasto en sanidad de la nación.

Los **autoinjertos,** el trasplante del propio tejido del paciente de una región corporal a otra, pueden reducir algunos problemas de los trasplantes. Por ejemplo, las operaciones de *bypass* coronario consisten en eliminar segmentos de una vena de la pierna y conectar este vaso sanguíneo quirúrgicamente a las arterias del corazón como un *bypass* alrededor de los vasos obstruidos. No obstante, si un paciente necesita un trasplante de hígado o de corazón, se necesita encontrar una persona que pueda

donar el órgano para el receptor. Incluso cuando se cree que un donante humano puede ser compatible, el rechazo al órgano puede suponer un gran problema. El rechazo se produce normalmente cuando el sistema inmune del receptor reconoce que el órgano del donante es extraño. Compatibilizar órganos para un trasplante supone realizar un estudio del tipo de tejidos para comprobar si un órgano de un donante es compatible con el receptor. El estudio del tipo de tejidos se basa en proteínas marcadoras que se encuentran en la superficie celular (membrana) de cada célula del organismo. Estas proteínas forman parte de un gran grupo de más de 70 genes denominado **complejo principal de histocompatibilidad (MHC),** llamado así convenientemente porque *histo* significa «tejidos» y las moléculas del MHC deben ser compatibles entre el donante y el receptor para poder realizar un trasplante de órgano.

Existen muchos tipos de proteínas del MHC. Un grupo común, los antígenos leucocitarios humanos (HLA, llamados así por ser los primeros descubiertos en los glóbulos blancos o leucocitos) se encuentran en casi todos los glóbulos blancos. Las células del sistema inmune como las células B y T, reconocen los HLA en todas las células del organismo presentes desde el nacimiento como «propias» (pertenecientes al mismo individuo), mientras que otras células son «no propias», o células extrañas a las que el sistema inmune puede atacar y destruir. Algunos HLA comunes se encuentran en la mayoría de los tejidos humanos y otros son propios de un individuo determinado. Tener éxito en un trasplante de un órgano de un humano a otro requiere una gran compatibilidad de varios tipos de HLA entre el órgano del donante y las células del receptor. De lo contrario, el receptor rechazará el órgano trasplantado.

Desde que se realizó el primer trasplante de hígado humano en 1963, los cirujanos han utilizado fármacos inmunosupresores para debilitar el sistema inmune y minimizar el rechazo a los órganos. La mayoría de los receptores de trasplantes tienen que tomar inmunosupresores durante el resto de su vida. Un problema obvio de este método reside en el hecho de que los pacientes que toman fármacos inmunodepresores corren el riesgo de desarrollar infecciones que pueden poner en peligro su vida, ya que tienen un sistema inmune debilitado. La falta de donantes de órganos y el rechazo a los órganos son los motivos principales por los que los científicos están buscando nuevas formas de obtener órganos para donaciones.

Los **xenotrasplantes** (la transferencia de órganos de una especie a otra) pueden convertirse algún día en una alternativa viable a la donación de órganos entre humanos, lo que ayudaría a reducir la enorme demanda de órganos humanos. Una vez se consideró a los babuinos como los animales adecuados para proporcionar órganos a los receptores humanos. El primer trasplante de órgano de animal a humano practicado en un niño, realizado en 1984 por los doctores del Loma Linda University Medical Center de California, consistió en el trasplante de un corazón de babuino a la bebé Fae, una niña de 12 días de vida. La bebé Fae vivió con el corazón de babuino durante tres semanas hasta que murió a causa de complicaciones relacionadas con el rechazo al órgano. Se han realizado trasplantes similares sin mucho éxito. Aunque los babuinos y otros primates pueden seguir siendo candidatos para proporcionar órganos, muchos grupos están investigando las posibilidades de utilizar cerdos como una fuente de órganos. Los cerdos pueden resultar una buena elección porque abundan, resultan fáciles de criar y son bastante baratos. Asimismo, muchos órganos de los cerdos son similares en cuanto al funcionamiento y al tamaño de los tipos de órganos humanos. Se ha desacelerado el progreso en la utilización de cerdos debido a la preocupación de que los virus se puedan transmitir de cerdos a humanos, lo que provocaría el rechazo de los órganos trasplantados y crearía otros problemas de salud.

Los científicos que investigan los trasplantes han combinado recientemente las técnicas moleculares con la tecnología de trasplantes para producir cerdos clonados que puedan ayudar a superar los miedos actuales de rechazo a los órganos y la transmisión de enfermedades virales. Los investigadores de la universidad de Missouri han creado cochinillos clonados que carecen de un gen responsable del rechazo del sistema inmune de los humanos a los órganos de los cerdos. Mediante técnicas de bloqueo de genes, los investigadores han eliminado un gen fundamental denominado *GGTA1* (ß-1, 3-galactosil-transferasa). El *GGTA1* produce un azúcar en la superficie de los tejidos de los cerdos que, de estar presente al realizar el trasplante a un humano, se reconocería como un antígeno extraño, lo que llevaría a la producción de anticuerpos y al rechazo inmune del órgano. Se clonaron los cerdos con bloqueo del gen *GGTA1* mediante las técnicas de clonación de transferencia nuclear que vimos en el Capítulo 7. Crear cerdos con bloqueo de *GGTA1* puede ser una forma de obtener cerdos que podrían producir órganos para trasplantes que el sistema inmune humano no reconociera como extraños (Figura 11.18).



Figura 11.18 Los cerdos podrían salvar la vida de los pacientes que esperan un trasplante Estos cerditos se han diseñado sin un gen productor de azúcar que hace que los cuerpos humanos rechacen los órganos de los cerdos, lo que les convierte en una fuente de órganos sin rechazo por parte de los humanos.

Los xenotrasplantes no siempre tienen que consistir en la transferencia de un órgano completo, como veremos en la próxima sección. Los científicos están trabajando duro para desarrollar formas de administrar pequeños grupos de células como una técnica para el trasplante de células y tejidos.

La terapéutica celular

La terapéutica celular consiste en la utilización de células para sustituir tejidos defectuosos o para administrar moléculas biológicas importantes. Una alternativa para evitar el rechazo a los trasplantes de órganos que comprenden tejido humano y los xenotrasplantes consiste en utilizar células vivas encapsuladas en diminutos envases de plástico o tubos denominados **biocápsulas** o microcápsulas. Asimismo, las biocápsulas pueden contener células de ingeniería genética diseñadas para producir moléculas terapéuticas como proteínas recombinantes.

Las biocápsulas tienen diminutos agujeros en las paredes, lo que las hace permeables al intercambio de nutrientes y permite a las moléculas producidas por las células encapsuladas escapar de la cápsula y entrar en el torrente sanguíneo o en los tejidos de alrededor (Figura 11.19). Por ejemplo, las cápsulas que contienen células productoras de insulina (células beta) del páncreas, si se implantaran en pacientes con diabetes del tipo I, producirían insulina, la cual podría salir de la cápsula, entrar en el torrente sanguíneo y llegar a todos los órganos corporales que requieren insulina. Otra característica importante de las biocápsulas es que protegen las células de los ataques del sistema inmune del receptor, ocultándolas dentro de cápsulas, de forma que las células inmunes y los anticuerpos no puedan entrar en la cápsula para destruirlas. Aunque no pueden proporcionar una cura permanente, las biocápsulas sí pueden proporcionar un flujo duradero de moléculas en el organismo. Con toda probabilidad, este método requeriría que las biocápsulas se cambiaran cada pocos meses. No obstante, en el caso de la diabetes, podría resultar una mejor alternativa que las inyecciones diarias de insulina.

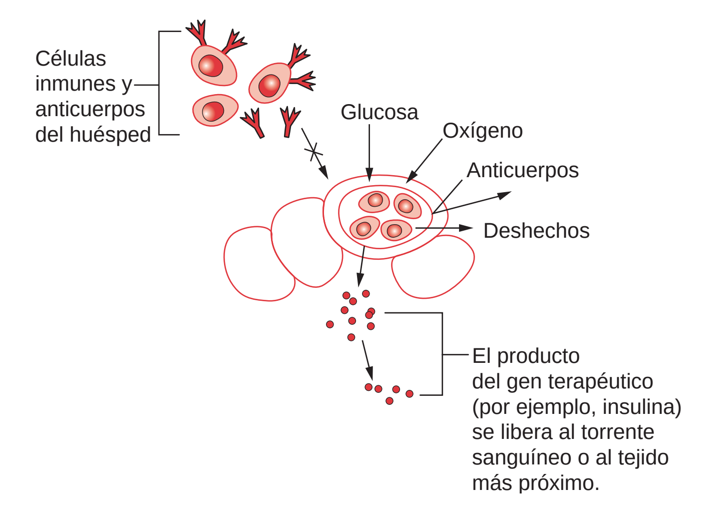


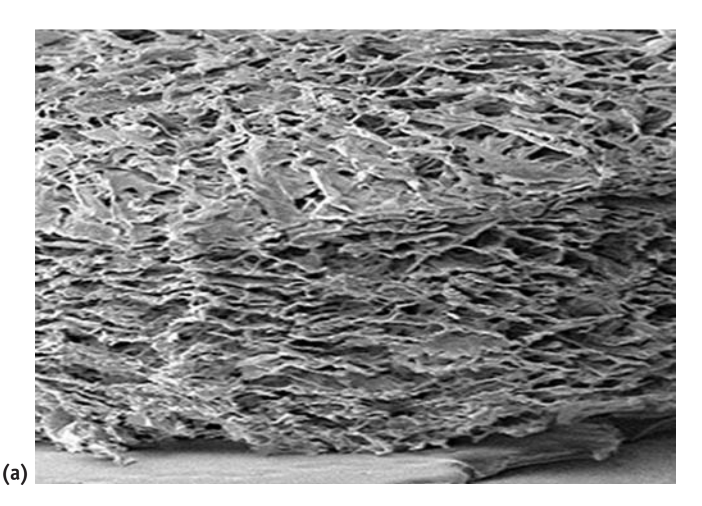
Figura 11.19 Biocápsulas Las células encapsuladas pueden proporcionar formas útiles de administrar moléculas terapéuticas. Las células de las biocápsulas están protegidas del ataque de las células inmunes y los anticuerpos del huésped. Al mismo tiempo, las biocápsulas permiten a las moléculas producidas por las células abandonar la cápsula y proporcionar beneficios terapéuticos para el huésped. Esta figura ilustra la forma en que se podrían usar células productoras de insulina para proporcionarle una fuente de insulina a un paciente con diabetes.

La ingeniería de tejidos

Pagues 30.000 euros o 300 por tu primer coche, una cosa es segura: con el tiempo las piezas se desgastarán y se romperán. Una visita al mecánico local puede reparar y sustituir algunas partes del coche, pero finalmente el coche se desgasta hasta un punto de no retorno y es momento de comprar otro coche. El desgaste de las partes del cuerpo humano también pasa factura. Con el tiempo, los órganos no trabajan tan bien como deberían. En algunos casos un órgano puede dejar de funcionar por completo. Incluso si una persona lleva una vida relativamente sana, el desgaste por el envejecimiento o un percance repentino como un ictus o un ataque al corazón producirán un declive en el funcionamiento del órgano e incluso el fallo de éste. Sin embargo, nuestro cuerpo no es como los coches: no podemos acudir a un taller para que nos sustituyan las piezas.

No obstante, en el futuro la emergente ciencia de **ingeniería de tejidos** podría algún día proporcionar tejidos y órganos que se puedan utilizar para sustituir a los tejidos dañados o enfermos. Esta pequeña, pero creciente industria (hay más de 60 empresas de biotecnología que trabajan en la ingeniería de tejidos sólo en Estados Unidos, y los expertos predicen que el campo crecerá un 50 por ciento en la próxima década) está involucrada de forma activa en la investigación para producir tejidos y órganos humanos que se puedan usar para sustituir tejidos dañados o incluso posiblemente tejidos desgastados. Por ejemplo, las capas de piel humana creadas por la ingeniería han resultado ser muy útiles para tratar a las víctimas de quemaduras graves que han perdido partes considerables de su piel, una circunstancia muy dolorosa y peligrosa para la vida.

Los ingenieros de tejidos a menudo comienzan por diseñar y construir un marco o soporte hecho de sustancias biológicas como calcio, colágeno, un polisacárido denominado alginato, o materiales biodegradables. El soporte a menudo tiene forma de molde para el órgano que se va a sustituir y sirve para crear un marco tridimensional sobre el cual colocar las células. El crecimiento de las células humanas en el soporte se denomina *sembrado*, porque las células literalmente actúan como «semillas» para crear más células que crecerán sobre el soporte. Los soportes sembrados con células se sumergen en un medio rico en nutrientes, y con el tiempo las capas de células crecen sobre el material de soporte para tomar la forma de éste. Hasta ahora, los injertos de capas de piel han resultado ser el órgano proveniente de la ingeniería de tejidos que ha crecido con más éxito. No obstante, las estructuras óseas creadas


(a)

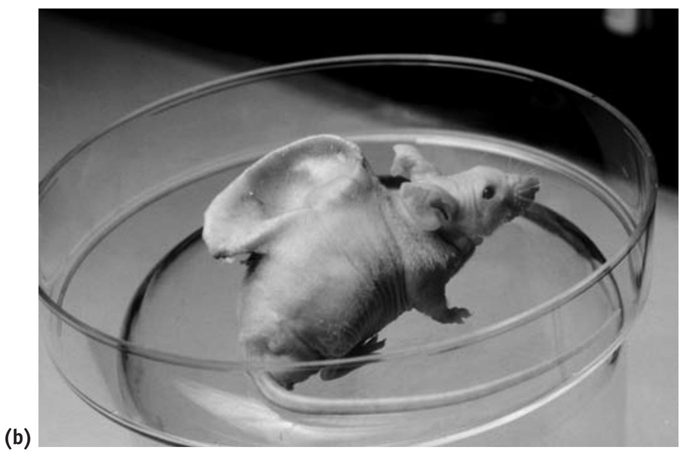

(b)

Figura 11.20 Ingeniería de tejidos (a) Un ejemplo de soporte de colágeno similar al tipo usado para diseñar una oreja en la espalda de un ratón (b).

por la ingeniería de tejidos y usadas para curar fracturas de huesos también han funcionado muy bien y los soportes para dientes también se muestran prometedores.

En la década de 1990, el pionero en ingeniería de tejidos, el doctor Charles Vacanti y sus compañeros coparon los titulares de los periódicos de todo el mundo cuando dieron a conocer un ratón con una oreja que le crecía en la espalda (Figura 11.20). En este ejemplo, se adjuntó un soporte biodegradable con la forma de una oreja a un ratón y después se sembró con células del cartílago de vacas. Las células del cartílago se infiltraron en el soporte y produjeron cartílago a medida que crecían y después, como el soporte se degradaba, el cartílago desarrolló la fuerza suficiente para sostenerse a sí mismo. Este tejido nunca se trasplantó a un humano. Dado que estaba hecho de células de vaca, el sistema inmune humano lo habría rechazado en cualquier caso. Asimismo, el tejido era sólo la oreja, sin las estructuras del oído que detectan el sonido realmente. No obstante, fue una prueba de que la ingeniería de tejidos podría funcionar.

La creación de órganos grandes y complejos como el hígado y el riñón ha resultado ser mucho más difícil, aunque se ha usado tejido fetal para hacer crecer un riñón rudimentario en ratas que fue capaz de producir un fluido semejante a la orina. Al menos hay dos ensayos clínicos de Fase II en curso en los que se han creado vejigas humanas mediante biopsias de tejido de vejigas de pacientes para sembrar soportes y producir nuevas vejigas. La ingeniería de tejidos se encuentra en su edad temprana, pero está progresando muy rápidamente y existen muchos motivos para pensar que los órganos resultantes de la ingeniería van a ser una realidad. La ingeniería de tejidos también se beneficiará del conocimiento de los genes obtenido en el Proyecto del Genoma Humano. A modo de ejemplo, tendremos en cuenta cómo el gen de la telomerasa se puede usar para avanzar en el campo de la ingeniería de tejidos.

La historia del telómero

En las células humanas normales las terminaciones de los cromosomas contienen secuencias de nucleótidos de DNA denominadas **telómeros.** Normalmente los telómeros son unidades de entre 8.000 y 12.000 bps de la secuencia repetitiva 5′-TTAGGG-3′. Se puede decir que son como las etiquetas de plástico que se encuentran al final de los cordones e impiden que éstos se deshilachen, una especie de «tapa» de cromosoma. Las células normales tienen una capacidad limitada de proliferar. La mayoría de las células del organismo humano se pueden dividir un máximo de entre 50 y 90 veces antes de mostrar síntomas de envejecimiento (un proceso denominado **senescencia**) que finalmente lleva a la muerte celular. El tiempo de vida de una célula se ve afectado en parte por los telómeros.

Cada vez que una célula se divide, los telómeros se acortan ligeramente. Esto se produce debido a un error básico que evita que la polimerasa del DNA copie completamente los extremos de las dos hélices de una molécula de DNA. Los telómeros actúan de muchas maneras como un reloj biológico para medir las divisiones celulares que provocan la senescencia y la muerte celular. Los telómeros se reducen y se produce la senescencia hasta que la célula ya no se puede dividir más. Si existen copias múltiples de las repeticiones TTAGGG en los extremos de los cromosomas, las células pueden perder este DNA sin perder las preciadas secuencias de genes. La pérdida final de las secuencias de repetición produce una pérdida crítica de DNA, de forma que las células ya no se dividen más (Figura 11.21).

Los científicos han sabido durante mucho tiempo que muchas células cancerígenas se pueden dividir de forma indefinida (una propiedad llamada *inmortalidad*). Una forma de que las células cancerígenas alcancen la inmortalidad es por medio de las acciones de una enzima denominada **telomerasa.** La telomerasa repara la longitud del telómero en los extremos de los cromosomas mediante la adición de nucleótidos de DNA para tapar el telómero después de cada ronda de división celular. La telomerasa no está activa en las células normales, pero sí en más del 90 por ciento de los cánceres humanos. Al evitar el acortamiento del telómero, la actividad de la telomerasa es la razón principal por la cual las células cancerígenas se pue-

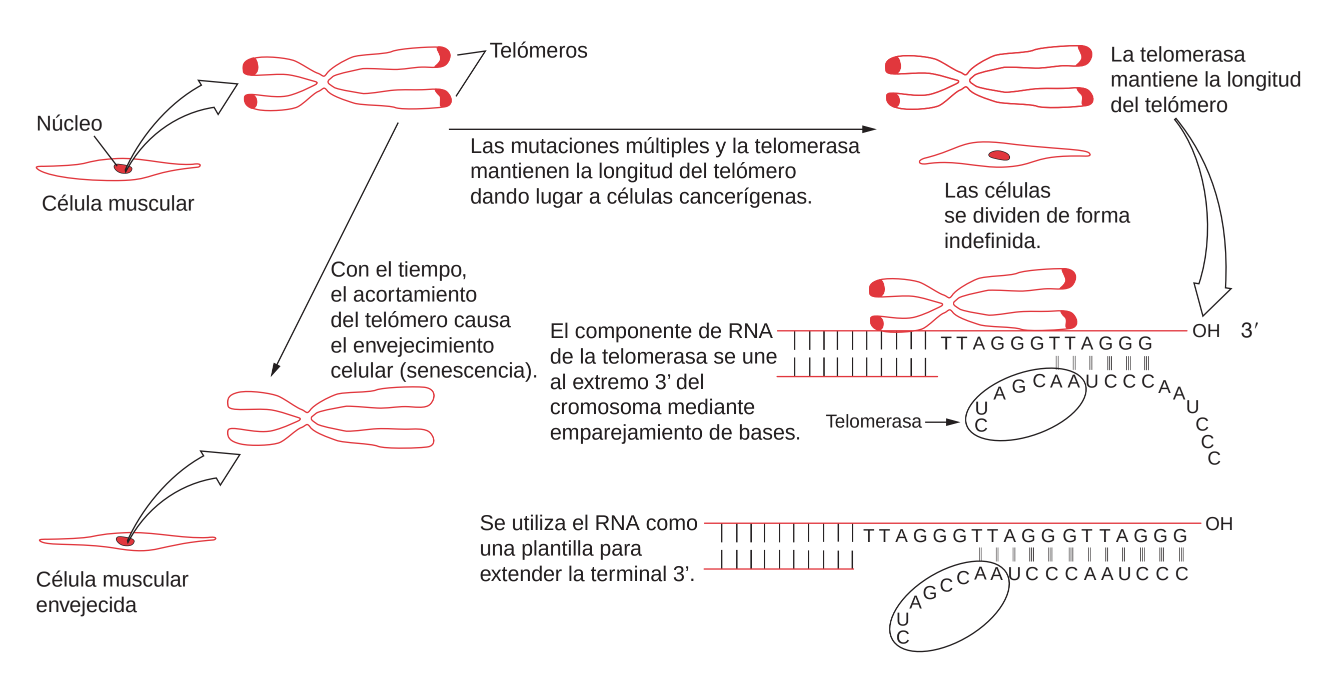


Figura 11.21 El acortamiento de los telómeros provoca el envejecimiento celular Las células humanas envejecen de forma progresiva, un proceso denominado *senescencia*, tras cada ronda de divisiones celulares porque los telómeros se acortan con cada ronda de replicación de DNA. Finalmente, el acortamiento de los telómeros provoca la muerte celular. A través de mutaciones que afectan el funcionamiento de los diferentes genes y la expresión de la enzima telomerasa, las células cancerígenas se pueden dividir de forma indefinida y evitar la senescencia. La telomerasa desempeña un papel importante en este proceso, ya que rellena continuamente las secuencias de telómeros para evitar que se acorten durante la división celular.

den dividir indefinidamente. De hecho, los biólogos llaman a las células cancerígenas células inmortales debido a su capacidad de evitar la senescencia de forma indefinida.

Numerosos estudios indican que el acortamiento del telómero está involucrado en el proceso de envejecimiento (dolores, arrugas, artritis, canas y otros síntomas que los humanos experimentan a medida que envejecen). La telomerasa no es una «fuente de la juventud» para los efectos del envejecimiento. El envejecimiento y el cáncer son mucho más complejos que sólo una enzima. Aunque se encuentran altos niveles de telomerasa en casi todas las células cancerígenas humanas, la telomerasa no *provoca* cáncer por sí misma. La telomerasa en combinación con mutaciones genéticas de genes que controlan la división celular puede crear células inmortales que evitan la senescencia. La sobreproducción de telomerasa a menudo se correlaciona con el crecimiento agresivo de los tumores. Los investigadores están trabajando en estrategias de tratamiento entre las que se incluye el uso de telomerasa con el objetivo de conseguir una vacuna anticáncer para inhibir la telomerasa e impedir que las células cancerígenas se dividan.

Desde la perspectiva de la ingeniería de tejidos, los científicos están investigando la forma en que la introducción de los genes de la telomerasa en células humanas cultivadas puede permitirles producir células humanas normales que posean la inmortalidad. En caso de tener éxito, las células humanas inmortales podrían resultar muy valiosas para el tratamiento de individuos con trastornos relacionados con el envejecimiento, desde la artritis a las enfermedades neurodegenerativas. Asimismo, estas células podrían utilizarse para un gran número de funciones, tales como proporcionar células de la piel para curar úlceras de decúbito y otras úlceras y tratar a pacientes con ceguera tardía, distrofia muscular e incluso trastornos cerebrales. En el futuro la tecnología podría incluso estar disponible para eliminar las células que envejecen de un paciente, introducir los genes de la telomerasa a estas células y aumentar la duración de su vida para después devolver las células al paciente. Parte de este trabajo se podría realizar en combinación con **células madre,** que constituyen quizás el asunto de mayor controversia y actualidad en la biotecnología médica.

La tecnología de células madre

El CDC's National Center for Human Statistics indica que cerca de 3.000 estadounidenses mueren cada día a causa de enfermedades que algún día podrían tratarse con la tecnología de células madre. En el futuro la investigación con células madre podría afectar la vida de millones de personas en todo el mundo. Las enormes expectativas y la gran controversia que rodea a la investigación con células madre y a los asuntos relacionados han hecho que estos temas llenen portadas de periódicos y titulares de televisión.

¿Qué son las células madre?

Para comprender qué son las células madre, necesitamos echar un vistazo rápido al desarrollo del embrión humano.

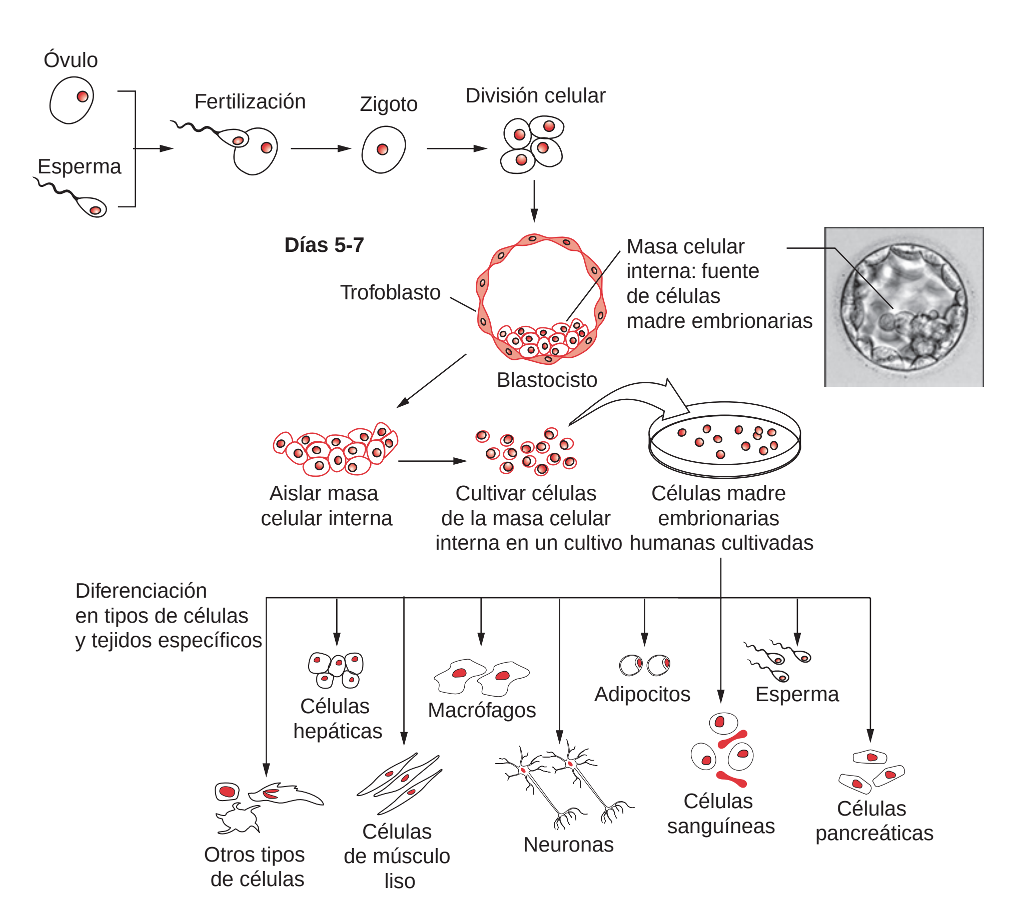


Figura 11.22 Aislamiento y cultivo de células madre embrionarias Las células aisladas de la masa celular interna de los embriones humanos se pueden cultivar como una fuente de células ES humanas. Con las condiciones de cultivo adecuadas, las células ES se pueden estimular para que se diferencien en casi todos los tipos de células del organismo.

Hacemos esto tomando en consideración la forma en que se realiza la **fertilización *in vitro* (FIV).** La FIV tuvo repercusión pública por primera vez en 1978, cuando nació Louise Brown, el primer bebé probeta. Para crear un niño mediante FIV, se mezclan el esperma y el óvulo de los padres donantes en una placa de cultivo para generar un embrión. Tras varios días de división, el embrión se implanta quirúrgicamente en el útero de una mujer, normalmente la donante de óvulo, que ha recibido un tratamiento con hormonas para preparar el útero para la implantación de un embrión. Cuando una pareja decide someterse a la FIV, normalmente se crean varios embriones, pero a menudo sólo se implanta uno durante cada proceso. Los embriones restantes se congelan para posibles usos futuros, ya que pueden resultar una fuente en potencia de células madre embrionarias, pero también son origen de una gran controversia.

Un embrión pasa por una serie predecible de fases de desarrollo (Figura 11.22). Una vez se realiza la fertilización de un esperma y un óvulo, el óvulo fertilizado se denomina **cigoto.** El cigoto se divide rápidamente y tras entre tres y cinco días forma una bola compacta de cerca de 12 células denominada **mórula,** que significa «pequeña mora». Entre cinco y siete días después de la fertilización las células en división crean un embrión que se compone de un pequeño grupo hueco de unas 100 células denominado **blastocisto.** El blastocisto tiene aproximadamente un séptimo de milímetro de diámetro. El blastocisto contiene una fila externa de células denominada trofoblasto. Esta capa se desarrolla para formar parte de la placenta que alimenta al embrión en desarrollo. El área de las células que más interesa a los biólogos que trabajan con células madre es un pequeño grupo de cerca de 30 células del blastocisto que forman una estructura conocida como la **masa celular interna** (Figura 11.22). Estas células son la fuente de las **células madre embrionarias humanas (ESC).**

Durante el desarrollo embrionario, las células de la masa celular interna se desarrollan para formar el propio embrión. Estas células tienen la capacidad de someterse a **diferenciación,** un proceso de maduración en el que las células desarrollan funciones especializadas. La diferenciación es un proceso complejo que comprende la activación y el silenciamiento de muchos genes. Las células en diferenciación se basan en señales químicas como los factores de crecimiento y las hormonas de otras células que les ayudan a cambiar. Las células madre son tan especiales porque finalmente pueden diferenciarse para formar los más de 200 tipos de células que componen el cuerpo humano. Las células madre reciben la denominación de **pluripotentes** porque tienen potencial para desarrollarse en varios tipos de células diferentes.

El primer aislamiento y cultivo exitoso de las primeras ESC de un blastocisto humano fue realizado en 1998 por James Thomson, de la universidad de Wisconsin, en Madison, quien había cultivado ESC de macacos Rhesus dos años antes. También en 1998 John Gearhart y sus compañeros de la universidad Johns Hopkins aislaron células

germinales embrionarias, células primitivas que forman los gametos (esperma y óvulo), provenientes de tejido fetal humano y demostraron que estas células se pueden desarrollar en diferentes tipos de células (Figura 11.22). Estos descubrimientos siguieron el trabajo de otros científicos que habían aislado células madre de especies como ratones, cerdos, vacas, conejos y ovejas. De hecho, los investigadores de células madre reconocen que gran parte de lo que se conoce acerca del aislamiento de ESC se debe al trabajo pionero iniciado con ratones en la década de 1980 (otro excelente ejemplo de cómo los organismos modelo contribuyen en gran medida al avance de la ciencia).

Las células ES humanas son células no especializadas que poseen dos propiedades principales que ilusionan a los científicos.

- Las células ES se pueden autorrenovar de forma indefinida para producir más células madre.
- Con las condiciones de crecimiento adecuadas, las ESC pueden diferenciarse diferentes células maduras con funciones especializadas.

Las células ES humanas evitan la senescencia y no muestran síntomas de envejecimiento, debido en parte a que expresan altos niveles de telomerasa. Varios grupos han conservado células madre durante más de tres años y con más de 600 rondas de divisiones sin problemas aparentes. Las células cultivadas como esas que se pueden conservar y cultivar con éxito se denominan **líneas celulares.** Asimismo, las células madre crecen rápidamente y se pueden congelar durante largos períodos de tiempo conservando sus propiedades. Bajo las condiciones adecuadas, cuando se estimulan con diferentes moléculas que incluyen hormonas y sustancias llamadas **factores de crecimiento** (los científicos están trabajando para identificar muchos de estos factores) se puede inducir la diferenciación de las líneas celulares de células madre en diferentes tipos de células. Las células madre necesitan cultivarse sobre una capa de otras células, normalmente derivadas de ratones, denominadas «células de soporte», las cuales proporcionan a las ESC muchos componentes desconocidos que les ayudan a multiplicarse y a evitar diferenciarse. Recientemente varios laboratorios han dado a conocer su éxito en el cultivo de células madre sin capas de soporte, aunque mediante la adición de factores de crecimiento a las ESC como el factor de crecimiento de fibroblastos. Esto supone una gran ventaja porque las células de soporte a menudo se pueden mezclar y contaminar células madre cuando se estimulan para diferenciarse.

En el laboratorio, bajo las condiciones de cultivo adecuadas, las células madre embrionarias de humanos, ratones, ratas, primates y otras especies se diferencian en gran cantidad de células, entre las que se incluyen las células de la piel, las células cerebrales (tanto neuronas como células gliales que dan soporte, nutren y protegen a las neuronas), cartílago (condrocitos), espermatozoides, osteoblastos (células que forman los huesos), células hepáticas (hepatocitos), células musculares, entre las que se incluyen los músculos lisos que forman las paredes de los vasos sanguíneos, células de los músculos esqueléticos, que forman los músculos que se unen al esqueleto y lo mueven, y células musculares cardiacas (miocitos), que constituyen las paredes musculares del corazón.

¿Cómo obtienen los investigadores ESC? Las células ES humanas para fines de investigación se obtienen a partir de los blastocistos de los embriones que las parejas ya no necesitan para la FIV o de embriones humanos creados mediante FIV donados como material de investigación. Normalmente, los blastocistos sobrantes se destruirían o congelarían de forma indefinida, pero con el consentimiento de la pareja, se pueden usar para aislar células madre embrionarias, como se describe en la Figura 11.22. Se estima que sólo en las clínicas de fertilidad de Estados Unidos se descartan anualmente cerca de 400.000 embriones congelados y varios miles de óvulos.

Una peculiaridad reproductiva puede permitir a los investigadores cultivar células madre sin necesidad de embriones humanos. Antes de la fertilización, los óvulos humanos tienen en realidad un número completo de cromosomas (46). Con la fertilización, un conjunto de éstos (23) se fusionarán con 23 cromosomas del esperma. Los otros 23 cromosomas del óvulo se expulsan a una célula sobrante denominada *corpúsculo polar,* que no se desarrolla más. Es posible tratar óvulos humanos con sustancias químicas para que retengan los 46 cromosomas y después inducir el desarrollo embrionario a partir del óvulo. Este proceso de creación de embriones sin fertilización se denomina **partenogénesis,** y se produce naturalmente en algunos animales como las salamandras, algunos reptiles, aves como los pollos y determinados insectos, como una forma normal de reproducción. La creación de embriones humanos mediante partenogénesis puede ser otra forma de generar células ES. Ya se han aislado células madre de los óvulos de un primate partenogénico y recientemente se han aislado ESC de un embrión humano creado mediante partenogénesis (trataremos este descubrimiento más adelante en esta sección). Es posible que las células madre derivadas por partenogénesis aún no disipen las preocupaciones acerca de la utilización de embriones para investigación porque es posible que a la gente no le guste el estado incierto de un embrión partenogénico como una forma de vida, ya que no se obtuvo a partir de la fertilización. Hasta ahora, parece que los óvulos partenogénicos humanos no son capaces de desarrollarse para formar niños a largo plazo.

¿Son capaces las células madre adultas de hacer lo mismo que las células madre embrionarias?

La investigación sobre las ESC es muy controvertida debido a su fuente: un embrión temprano. Durante los últimos años los científicos han descubierto **células madre derivadas de adultos (ASC),** células que residen en el tejido adulto maduro y se podrían cultivar y diferenciar para producir otro tipo de células. Las ASC aparecen en cantidades muy pequeñas y, aunque se han aislado del cerebro, intestino, pelo, piel, páncreas, médula ósea,

grasa, glándulas mamarias, dientes, músculos y sangre, aún no se han descubierto en todos los tejidos adultos.

Algunos oponentes a la investigación con ESC afirman que las ASC son una alternativa más aceptable que utilizar ESC porque aislar ASC no requiere destruir un embrión. Las ASC se pueden extraer de personas mediante una biopsia de aguja fina: una aguja de diámetro fino se inserta en un tejido óseo o muscular. Puede que sea posible incluso aislarlas a partir de cadáveres. Asimismo, sabemos que las ASC están presentes en el tejido graso (adiposo), que podría ser una excelente fuente de células madre, especialmente si tenemos en cuenta que más de 500.000 litros de tejido graso obtenidos mediante liposucción y otras técnicas de cirugía estética se tiran cada año.

Los experimentos han demostrado que las ASC de un tejido se pueden convertir en otro tipo de célula diferente. Por ejemplo, un ASC aislada del tejido muscular se podría usar para desarrollar un glóbulo sanguíneo. No obstante, otros estudios han demostrado que las ASC no pueden ser tan pluripotentes como las ESC. Se requiere mucha más investigación para conocer si las ASC serán tan útiles como lo pueden ser las ESC.

¿Se pueden generar células madre sin destruir un embrión?

Pronto podría haber varias formas de producir células con propiedades ESC sin destruir un embrión, y muchos laboratorios de todo el mundo están trabajando para conseguirlo. Uno de los métodos consiste en crear líneas celulares de células madre de una única célula (denominada *blastómero*) a partir de un embrión de una fase anterior al blastocisto denominada *mórula* que contiene de 8 a 10 células. La eliminación de una célula, lo que se realiza para las pruebas genéticas de la preimplantación de embriones producidos *in vitro,* no destruye el embrión, el cual puede seguir desarrollándose hasta la fase de blastocisto y más allá. En otro método, los científicos del Massachusetts Institute of Technology dejaron sin efecto un gen denominado *CDX2* en una célula de la piel y después fusionaron la célula con un ovocito para crear un blastocisto que dio lugar a ESC, pero el blastocisto modificado no se pudo implantar en el útero, de forma que fue incapaz de desarrollarse y convertirse en un organismo completo. Aún está por ver si el embrión desactivado resultaría aceptable para los que se oponen a la investigación con células madre, pero hay mucha gente trabajando en este método, intentando comprender los genes que controlan el crecimiento y desarrollo de ESC.

A principios de 2007 los investigadores de la universidad de Wake Forest publicaron un trabajo en el que demostraba que habían aislado células madre del líquido amniótico humano. En el laboratorio, las denominadas **células madre derivadas del líquido amniótico (AFS)** fueron inducidas a transformarse en neuronas, células musculares, adipocitos, células óseas, vasos sanguíneos y células hepáticas. No está del todo claro si estas células son realmente diferentes de las ESC o las ASC, pero si lo fueran, podrían ser un punto de inflexión en la tecnología de las células madre.

Creación de células madre mediante reprogramación nuclear de células somáticas

Uno de los nuevos métodos más prometedores para aislar las células madre sin crear un embrión consiste en una técnica denominada **reprogramación nuclear de células somáticas.** El concepto básico de este método consiste en utilizar genes involucrados en el desarrollo de las células para forzar a una célula somática a volver a una fase anterior de desarrollo y afectar a la expresión de genes, para reprogramar la célula somática genéticamente para que vuelva a un estado pluripotente característico de las células madre de las que se derivó. En 2005, una de las primeras técnicas de reprogramación exitosas consistía en fusionar ESC con células de la piel denominadas *fibroblastos.* Las células híbridas generadas mostraban varias propiedades de ESC *in vitro* e *in vivo.*

En los dos últimos años varios laboratorios han obtenido con éxito la reprogramación nuclear de células de ratón y humanas, y este método se está anunciando como una revolución en la investigación en biología con células madre. Uno de los métodos consiste en utilizar retrovirus para aplicar cuatro transgenes *Oct3/4, Sox2, c-myc* y *Klf4* a los fibroblastos (Figura 11.23). La expresión de estos cuatro genes que codifican la transcripción de factores involucrados en el desarrollo de las células, «reprograma» los fibroblastos a una fase anterior de diferenciación. Estas células reprogramadas se denominan **células madre pluripotentes inducidas (iPS).** Las células iPS demuestran muchas propiedades de las células ESC, como la autorrenovación y la pluripotencia, y parecen no poder distinguirse de las ESC.

Estas células iPS también expresan genes como *Nanog* y *Oct,* que son marcadores característicos conocidos por expresarse en ESC indiferenciadas. Asimismo, otros experimentos demostraron que estas células iPS se podían diferenciar en otros tipos de células, entre las que se incluyen las células neurales y las de los músculos cardiacos.

A finales de 2007 dos grupos de investigación diferentes demostraron que habían generado con éxito células iPS mediante la reprogramación de células de la piel humana tomadas directamente de un voluntario. Uno de los grupos reprogramó células de la piel tomadas de la cara de una mujer de 36 años y células de tejido conectivo de las articulaciones de un hombre de 69 años, y el otro grupo utilizó células de la piel de la frente de un niño recién nacido. Asimismo, recientemente se han producido células iPS sin utilizar el gen *c-myc.* Este es un avance potencialmente importante porque el *c-myc* es un conocido gen causante del cáncer (oncogén). Estos prometedores resultados demuestran que la reprogramación nuclear puede ser una forma viable para generar células madre específicas de un donante sin necesidad de un embrión. Presta atención a los apasionantes nuevos avances de los próximos años relativos a la reprogramación nuclear y las células iPS.

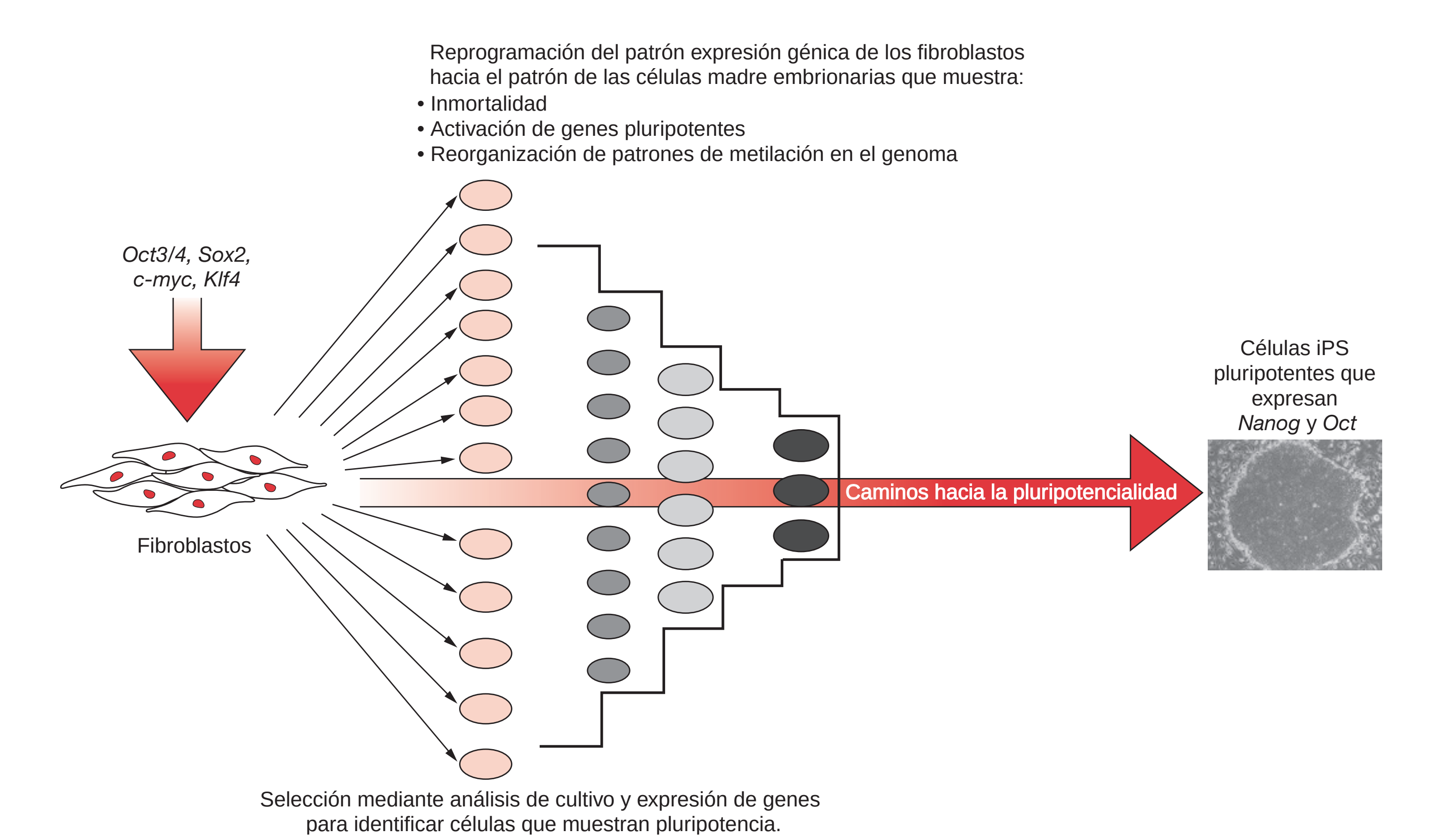


Figura 11.23 Reprogramación nuclear de células somáticas para producir células madre pluripotentes inducidas La introducción de cuatro genes de factores de transcripción (*Oct3/4, Sox2, c-myc, Klf4*) en fibroblastos de ratón induce la formación de células madre (iPS) pluripotentes inducidas. Durante este proceso un número de células no se reprograma y se deben seleccionar durante el cultivo y para la expresión de genes marcadores endógenos que son genes marcadores característicos (como *Nanog* y *Oct*) conocidos por expresarse en células madre pluripotentes.

Aplicaciones potenciales de las células madre

Existen numerosas aplicaciones potenciales para las células madre: desde el cultivo de tejidos sanos, el estudio para comprender y tratar defectos de nacimiento, la manipulación genética para administrar genes en métodos de terapia génica, hasta la creación de tejidos completos en el laboratorio mediante ingeniería de tejidos. Muchos científicos creen que las tecnologías de células madre desempeñarán un papel fundamental en el desarrollo de tratamientos de enfermedades como los ictus, las cardiopatías, las enfermedades de Parkinson, Alzheimer y Lou Gehrig, la diabetes y otras enfermedades (consulta la Tabla 11.2).

Potencial y *promesa* son palabras que se usan frecuentemente al hablar de las aplicaciones de las células madre, pero el uso de estas células para tratar estas enfermedades aún no está totalmente demostrado. Ahora presentaremos algunos de los ejemplos más prometedores de la aplicación de células madre hasta la fecha. Los pacientes con leucemia, un cáncer que provoca que los leucocitos se dividan de forma anormal produciendo células inmaduras, a menudo precisan de tratamientos de quimioterapia o radiación para destruir los leucocitos defectuosos. Como resultado, el sistema inmune de los pacientes se ve debilitado en gran medida. Asimismo, los tratamientos para la leucemia podrían comprender transfusiones de sangre para sustituir leucocitos y hematíes dañados por la quimioterapia. La utilización de las células madre para crear leucocitos se está convirtiendo en una forma efectiva de tratar la leucemia. También se han utilizado células madre de la sangre del cordón umbilical para proporcionar hematíes a pacientes con drepanocitosis e individuos con otras deficiencias sanguíneas. El aislamiento de células madre de la sangre del cordón umbilical se está haciendo tan habitual que en muchos estados de Estados Unidos los padres pueden optar por pagar para tener células madre de la sangre del cordón umbilical congeladas indefinidamente, en caso de que su hijo las pudiera necesitar en el futuro.

Hasta ahora ha habido bastantes resultados prometedores en modelos animales y ensayos clínicos humanos mediante células madre para reparación de tejidos. Por ejemplo, se han usado células madre de la grasa para formar tejido óseo en el cráneo humano. La reparación del tejido cardiaco ha mostrado un gran potencial. Se podría utilizar células madre para sustituir células muertas y en proceso de muerte tras un trauma como un infarto. Los infartos de miocardio son la causa principal de muerte en Estados Unidos, donde casi medio millón de personas

Tabla 11.2 LAS TERAPIAS BASADAS EN CÉLULAS MADRE PODRÍAN BENEFICIAR A MILLONES DE PERSONAS

Enfermedad	Número de pacientes en Estados Unidos
Enfermedad cardiovascular	58 millones
Enfermedades autoinmunes	30 millones
Diabetes	16 millones
Osteoporosis	10 millones
Cánceres (vejiga, próstata, ovarios, mama, cerebral, pulmón y colorrectales; tumores cerebrales)	8,2 millones
Enfermedad degenerativa de la retina	5,5 millones
Fenilcetonuria (PKU)	5,5 millones
Inmunodeficiencia combinada grave (SCID)	0,3 millones
Drepanocitosis	0,25 millones
Enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer y Parkinson)	0,15 millones

Fuente: Adaptado de «Stem Cells and the Future of Regenerative Medicine», http://www.nap.edu/catalog/10195.html.

mueren al año. La muerte de las células musculares cardiacas debilita el corazón y puede evitar que éste lata con la fuerza suficiente para mantener el flujo sanguíneo normal. Las células musculares cardiacas no se reparan por sí mismas. Los investigadores del New York Medical College y el National Human Genome Research Institute han inyectado con éxito células madre adultas de la médula ósea de ratones en zonas dañadas del corazón de éstos (Figura 11.24). Estas células madre se pueden convertir en células musculares cardiacas, formar conexiones eléctricas con las células sanas y mejorar el funcionamiento del corazón en más de un 35 por ciento. Se utilizó un método similar para trasplantar células ES humanas a la pared ventricular del corazón dañado de cerdos y humanos en ensayos clínicos. En los dos ejemplos, las células madre trasplantadas se diferenciaron para formar células musculares cardiacas que restauraron un porcentaje similar de actividad eléctrica y contractilidad de las zonas dañadas. Otro estudio utilizó células madre de la sangre del cordón umbilical para mejorar las funciones cardiacas en ratas.

Los científicos se muestran optimistas de que este método pueda funcionar algún día en humanos. Tengamos en cuenta esto: en el futuro es posible que un cirujano pueda pedir unos gramos de células musculares cardiacas a un laboratorio de medicina regenerativa para trasplantarlas al corazón de un paciente infartado, de una forma muy similar a como piden rutinariamente sangre a un banco de sangre para realizar una transfusión durante un procedimiento quirúrgico.

A finales de 2007 se dio a conocer un innovador y prometedor tratamiento que usaba células iPS para corregir la anemia de la drepanocitosis en ratones. Las células iPS se produjeron a partir de células de la piel de ratones transgénicos que expresaban una versión mutada del gen de la hemoglobina de la drepanocitosis humana y presentaban la enfermedad. Las células iPS fueron creadas mediante ingeniería genética para corregir la mutación del gen de la hemoglobina. Entonces se crearon las células madre de la sangre a partir de las células iPS corregidas y se transfirieron al ratón donante con drepanocitosis, que producía glóbulos rojos funcionales que corregían el estado de la enfermedad. Este es un resultado increíblemente apasionante que combina aspectos de la tecnología con células madre y de la terapia génica.

En este capítulo ya hemos tratado los problemas a los que se enfrentan los pacientes que padecen lesiones de médula espinal. En los últimos años los investigadores han echado por tierra una antigua creencia de que el cerebro humano y la médula espinal no podían crear nuevas neuronas. Se han aislado células madre adultas del cerebro y se han utilizado para crear neuronas en un cultivo, y los científicos ya han demostrado que las células ES se pueden diferenciar para formar neuronas que se pueden inyectar en ratones y ratas para mejorar el funcionamiento neural de los animales con lesiones de médula espinal. Los investigadores de la universidad Johns Hopkins han demostrado que los trasplantes de células humanas pueden hacer que los ratones con las patas traseras paralizadas anden. Estos ensayos se realizaron con ratones que resultaron paralizados después de infectarles con un virus semejante al de la poliomielitis que provoca la polio. Aún queda mucho trabajo por hacer en la reparación de la médula espinal y el campo de la regeneración, pero los investigadores creen que tal vez dentro de 3 a 5 años se puedan realizar trasplantes de células madre neurales en ensayos clínicos humanos, lo que ofrece esperanza a los numerosos individuos afectados por lesiones de médula espinal.

Sin embargo, hay que solucionar muchas cuestiones fundamentales sobre las células madre adultas y embrionarias antes de que las tecnologías de células madre sean estrategias de tratamiento viables. Por ejemplo, ¿cómo se puede controlar la diferenciación de las células madre una vez que las células se colocan en el organismo? Uno de los problemas de inyectar células madre en lugar de tejidos adultos diferenciados es que los científicos no pueden controlar totalmente la extensión de las células madre a otros lugares del organismo, ni tampoco pueden controlar la diferenciación de las células madre en otros tejidos diferentes a los del uso que se pretende. Las células ES inyectadas han formado tumores, entre los que se incluyen los tipos de tumores denominados *teratomas* que contienen mezclas

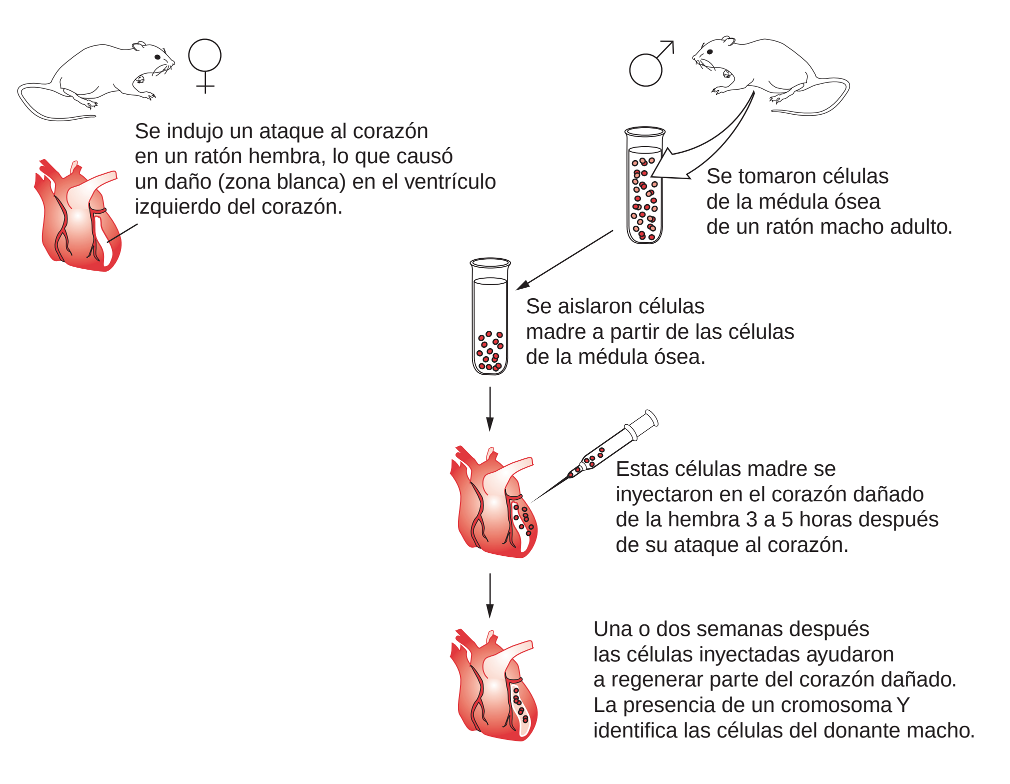


Figura 11.24 Reparación de un corazón dañado con células madre adultas Se pueden usar células madre de ratones para reparar zonas del corazón de un ratón dañadas por un ataque al corazón.

de tejido diferenciado como tejidos dentales, óseo y pelos, todo en un tumor. Otro problema consiste en evitar anomalías cromosómicas que suelen ocurrir cuando las células madre se diferencian. Por ejemplo, las modificaciones en el número de cromosomas (trisomía 12, trisomía 17 y otras) pueden ser un problema común de las células madre. Otras preguntas importantes que responder son:

- ¿Existe una célula adulta «suprema» que pueda convertirse en cualquier tejido del organismo? Algunos científicos se muestran optimistas; otros no tanto.
- ¿Por qué se autorrenuevan las células madre y mantienen un estado no diferenciado?
- ¿Qué factores desencadenan la división de las células madre?
- ¿Cuáles son las señales de crecimiento (químicas, genéticas, ambientales) que influyen en la diferenciación de las células madre?
- ¿Qué factores afectan la integración de los nuevos tejidos y células en los órganos?
- ¿Puede la reprogramación de células somáticas u otros métodos que no requieren un embrión convertirse en una técnica fiable para producir células madre pluripotentes con las propiedades de las ESC?
- ¿Será posible reprogramar células humanas sin utilizar oncogenes o retrovirus y se podrá mejorar la eficiencia de la reprogramación?

Las respuestas a estas y otras muchas preguntas ayudarán a los científicos y los médicos en su búsqueda del desarrollo de aplicaciones basadas en células madre para tratar las enfermedades humanas.

La clonación

Hemos tratado muchos tipos de clonación en este libro. Recuerda que *clonación* significa hacer copias de algo (un gen, una célula, o todo un organismo). La tecnología del DNA recombinante se utiliza para la clonación de genes. Cuando se dividen las bacterias o las células cultivadas en una placa de Petri o un biorreactor, se están produciendo clones de células. No obstante, está claro que ningún otro aspecto de la clonación es tan controvertido como la clonación animal. Con el anuncio de la clonación de la oveja Dolly el 24 de febrero de 1997, ante el mundo surgió inmediatamente la posibilidad de que la biotecnología diera como resultado la clonación animal. La creación de Dolly generó un gran aumento de la conciencia de la opinión pública y un gran debate acerca de la clonación. En esta sección vamos a tratar las implicaciones científicas de las aplicaciones de la clonación humana.

Clonación terapéutica y clonación reproductiva

Realmente existen dos enfoques de la clonación: la **clonación reproductiva** y la **clonación terapéutica** (Tabla 11.3). El objetivo de la clonación reproductiva es crear un bebé. Dolly fue el primero de muchos otros mamíferos en ser producido mediante clonación reproductiva. A diferencia de la clonación reproductiva, la clonación terapéutica proporciona células madre que se corresponden genéticamente con un paciente que requiere un trasplante. En la clonación terapéutica, se inyectan los cromosomas de la célula de un paciente (por ejemplo, las células de la piel) en un óvulo desnucleado (un óvulo al que se le ha quitado el núcleo), el cual se estimula para que se divida en cultivo

Tabla 11.3 COMPARACIÓN ENTRE CÉLULAS MADRE, CLONACIÓN TERAPÉUTICA Y CLONACIÓN REPRODUCTIVA

Producto final	Células madre embrionarias	Células madre adultas	Clonación terapéutica (transferencia nuclear de células somáticas)	Clonación reproductiva
	Células madre no diferenciadas (aisladas a partir del tejido fetal o embrionario como un embrión en la fase de blastocisto) crecidas en cultivo	Células madre no diferenciadas (aisladas a partir del tejido adulto como las células de la médula ósea) cultivadas en una placa de cultivo	Células madre no diferenciadas cultivadas (obtenidas de la persona en una placa de cultivo que será también el receptor de estas células)	Humano «clonado»
Objetivo/ aplicación	Fuente de células madre para investigación y tratamiento de enfermedades humanas como sustitución de un tejido dañado o enfermo	Fuente de células madre para investigar y tratar enfermedades humanas como sustitución de un tejido dañado o enfermo	Fuente de células madre que son compatibles genéticamente para tratar enfermedades humanas como sustitución de un tejido dañado o enfermo	Crear, duplicar o sustituir un ser humano mediante la producción de un embrión para su implantación y dar lugar al nacimiento del niño
Madre suplente requerida	No	No	No	Sí
Humano creado	No	No	No	Sí
Tiempo	Algunas semanas de crecimiento en cultivo	Algunas semanas de crecimiento en cultivo	Algunas semanas de crecimiento en cultivo	Nueve meses, la duración de un embarazo biológico normal (tras el crecimiento del embrión en un cultivo)

Fuente: Adaptado de Vogelstein, B., Alberts, B. y Shine, K. (2002). «Genetics. Please Don't Call It Cloning!» *Science,* 295: 1237 y «Stem Cells and the Future of Regenerative Medicine», www.nap.edu/catalog/10195.html.

para crear un embrión (Figura 11.25). El embrión producido no se usará para producir un niño. Por el contrario, el embrión se dejará crecer durante varios días hasta que alcance la fase del blastocisto, de forma que se pueda usar para cultivar células madre. Las células madre aisladas de este embrión pueden crecer en cultivos y después introducirse en el paciente donante (Figura 11.25).

La clonación terapéutica puede resultar una forma muy útil de obtener células madre específicas de pacientes que se podrían usar para tratar enfermedades sin miedo al rechazo inmune por parte del receptor porque éste era la fuente original de las células. En teoría, las células madre de un paciente también se pueden usar para crear líneas celulares a partir de humanos con enfermedades genéticas para proporcionar a los científicos un potencial sin precedentes con el fin de estudiar y aprender más acerca de las enfermedades humanas. Decimos «en teoría» porque no se ha probado que la clonación terapéutica en humanos pueda funcionar.

A muchos científicos no les gusta el término *clonación terapéutica* porque implica la creación de un clon humano. Crear células madre para tratar enfermedades humanas no es lo mismo que clonar un ser humano. La mayoría de los investigadores de células madre prefieren el término **transferencia nuclear de células somáticas** porque una transferencia nuclear es realmente el proceso biológico que se produce. Aunque no se trata de un proceso eficiente, la transferencia nuclear de células somáticas funciona esencialmente porque los óvulos desnucleados ya están preparados para el desarrollo. Incluso después de quitar el núcleo, los óvulos desnucleados poseen las proteínas y orgánulos necesarios para una rápida división celular. Cuando los científicos llevan a cabo experimentos con transferencia nuclear, utilizan una pipeta de diámetro fino que ejerce una pequeña succión sobre el óvulo para mantenerlo en su sitio (Figura 11.25). A continuación se inserta una aguja de cristal de un diámetro muy fino en el óvulo para extraer el núcleo. Esta célula desnucleada sirve como célula huésped durante la transferencia nuclear (muchas células mueren durante el proceso de extracción del núcleo). Después los científicos inyectan el núcleo, o en algunos casos una célula entera, en el óvulo de una célula donante la cual sirve como la nueva fuente de material genético para el óvulo (Figura 11.25).

El óvulo se incuba en un medio de crecimiento dentro de una placa de cultivo que contiene moléculas especializadas del crecimiento para estimular la rápida divi-

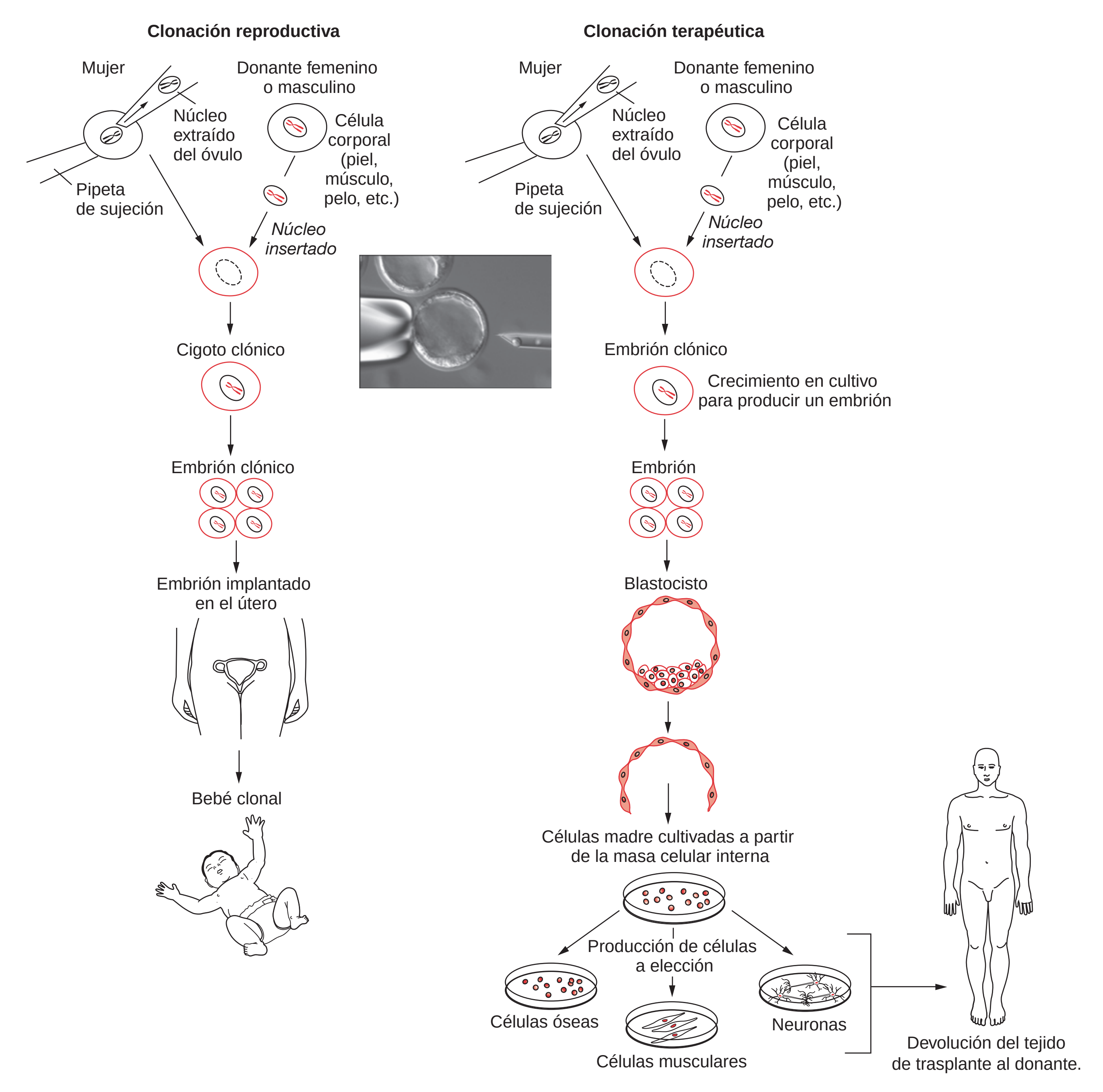


Figura 11.25 Clonación reproductiva y clonación terapéutica En la clonación reproductiva el objetivo consiste en producir un bebé clonado. En la clonación terapéutica, se producen células madre idénticas genéticamente a las células tomadas de un paciente para hacer posible la terapia con células madre específica del paciente. La foto muestra una pipeta de sujeción (lado izquierdo del óvulo) que sujeta un óvulo mientras se extrae el núcleo con una micropipeta de cristal (derecha).

sión que lleva a la formación de un embrión en un plazo de varios días. Para clonación terapéutica, el blastocisto se usaría como una fuente de células madre y después se destruiría. Para clonación reproductiva, el blastocisto se implantaría en el útero de una mujer para permitir que crezca y se desarrolle hasta formar un bebé en nueve meses. Recuerda de nuestro debate del Capítulo 7 que la clonación reproductiva mediante transferencia nuclear es un proceso muy ineficiente. En el caso de la oveja Dolly se realizaron 277 intentos de fusión nuclear para producir sólo un embrión implantado con éxito que se desarrolló completamente y dio lugar a Dolly. Muchos científicos piensan que la clonación reproductiva de humanos carece de ética, de moral y de seguridad científica. Se han publicado varios anuncios de un par de grupos privados acerca de sus planes actuales de producir humanos mediante clonación reproductiva. Estos anuncios han generado mucho escepticismo y han tenido un amplio rechazo y una fuerte denuncia por parte de la mayoría de la comunidad científica. En el Capítulo 12 trata-



TÚ DECIDES

Las células madre y los debates sobre la clonación

Frecuentemente, cuando la ciencia y la medicina producen descubrimientos innovadores, la sociedad no suele estar preparada para las consecuencias de la nueva tecnología. En 1850 el desarrollo de la anestesia fue un acontecimiento muy controvertido. Muchos se preocuparon por las reacciones adversas imprevistas de la anestesia y los grupos religiosos protestaron contra el parto «sin dolor», con el argumento de que Eva tuvo que salir del Jardín del Edén para dar a luz con dolor, según las Sagradas Escrituras. Más de 150 años después, casi nadie cuestiona que la anestesia es una herramienta importante para las operaciones quirúrgicas complejas e incluso para algunos procedimientos rutinarios.

Cuando se desarrolló por primera vez la tecnología del DNA recombinante, había bastante miedo e incertidumbre sobre cuál sería el resultado de tales experimentos (recuerda la Conferencia de Asilomar, tratada en el Capítulo 3, para tener información sobre los peligros de esta tecnología). A día de hoy, la tecnología del DNA recombinante ha dado como resultado numerosos productos innovadores y seguros que se han usado para tratar a más de 250 millones de personas en todo el mundo. Al igual que con la anestesia y el DNA recombinante, el clero, los políticos, los investigadores y la opinión pública debaten actualmente las ventajas de las células madre y la clonación. El motivo principal de estos debates es la fuente de las células madre, especialmente las células ES humanas y los posibles usos y abusos que se pueden hacer de ellas. En gran medida, las células ES causan controversia debido a la fuente de la que se obtienen: el embrión humano temprano. Sabiendo que las células ES pueden tratar y curar muchas enfermedades devastadoras y proporcionar a las personas la oportunidad de disfrutar de una vida más sana y larga, ¿qué piensas sobre su utilización? ¿Es justo que se pueda retrasar el progreso médico en el tratamiento de enfermedades permitiendo que sólo se empleen fondos de la administración pública para investigar con las líneas celulares existentes? Las células madre embrionarias son quizás el aspecto científico más controvertido que nunca se haya debatido en la opinión pública y en la política. Las preguntas relacionadas con las células madre y la clonación parece no tener fin.

- ¿Resulta aceptable producir un embrión humano sólo con el objetivo de destruirlo para otros usos?
- Algunos temen que las células madre y las tecnologías de clonación provoquen un aumento de la necesidad de óvulos para sustentar la investigación. ¿Es aceptable pagar a las mujeres para extraer sus óvulos de forma quirúrgica?
- ¿Cuál es el estado moral de los embriones tempranos creados mediante clonación terapéutica?

Algunos creen que una persona se forma desde el momento en que el óvulo se fertiliza y por tanto consideran que la clonación terapéutica equivale a matar a un niño de forma deliberada en favor del beneficio de otra persona. Otros consideran que un embrión es un grupo de células vivas con *potencial* para formar una persona, pero que el embrión en sí no es un ser humano. Entonces, ¿cómo podemos justificar destruir embriones desarrollados mediante métodos de fertilización *in vitro?* ¿Por qué no usar estos embriones para reducir el dolor y el sufrimiento en otros seres humanos?

Los científicos definen la vida de muchas formas. Los biólogos están de acuerdo con que el grupo de células denominado blastocisto está vivo a un nivel celular. Aunque todas las formas de vida merecen respeto, el blastocisto no es una persona porque carece de extremidades, sistema nervioso, órganos u otras características físicas del individuo humano. Existe un debate acerca de si deberíamos asignar un estatus moral a los embriones y en caso afirmativo, a qué nivel. ¿Aumenta el valor moral de un embrión a medida que se desarrolla? O ¿su valor moral es igual al de un bebé o adulto? Si se considera que un embrión temprano es una persona viva, entonces tiene todos los derechos de una persona viva. Por consiguiente, destruir de forma intencionada un embrión es inmoral. Los ciudadanos que pagan impuestos deben decidir cómo se gastará su dinero y qué creen que es una investigación ética, responsable y segura. La comunidad científica debe compartir sus conocimientos para garantizar que los ciudadanos tengan opiniones fundamentadas sobre asuntos como las células ES y la clonación.

La clonación humana está prohibida en Estados Unidos como también lo está el uso de fondos públicos para producir embriones para cultivar células madre, pero muchos países tienen políticas menos restrictivas que Estados Unidos. Existe la preocupación de que las fuertes restricciones en la investigación con células madre y clonación en Estados Unidos puedan provocar «una fuga de cerebros» en la que los científicos de élite se vayan a países donde la clonación sea legal. La industria de la biotecnología estadounidense podría verse perjudicada. Incluso si alguna vez se aprobara la clonación terapéutica en Estados Unidos, ¿aceptarían los ciudadanos la clonación reproductiva? Probablemente no. La clonación terapéutica, que se pretende usar para tratar enfermedades, es algo muy diferente a crear un nuevo ser humano. Si crear células iPS es una forma viable de producir células madre, los debates científicos y éticos acerca de la clonación terapéutica y el uso de ESC pueden volverse irrelevantes porque se podrían crear células madre sin necesidad de un óvulo o un embrión. Los estadounidenses aspiran a tener el mayor nivel de sanidad del mundo. Si los científicos de otro país utilizan la clonación terapéutica para producir tratamientos para la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer u otras, ¿qué pensarán los ciudadanos estadounidenses de no poder tener acceso a esas tecnologías en su país? Incluso algunos dicen que la clonación reproductiva es un derecho fundamental en los Estados Unidos. ¿Cómo te sentirías si formaras parte de una pareja infértil que no puede tener un hijo biológico de otra forma que no sea mediante clonación reproductiva? ¿Existen aplicaciones correctas y éticamente aceptables del uso de embriones y sus células? ¿Se puede decir lo mismo de la clonación? Tú decides.

mos algunas de las políticas y normas que afectan a los investigadores en clonación en todo el mundo. En el momento en que se imprimió este libro, no existía ninguna prueba definitiva de que se hubiera clonado un humano.

En noviembre de 2001 una compañía privada de biotecnología de Massachusetts, Advanced Cell Technology (ACT), anunció un descubrimiento importante en la clonación cuando informaron de que habían clonado los primeros embriones humanos mediante transferencia nuclear de células somáticas. ACT es la misma empresa que recientemente aisló células madre de un blastómero, como vimos en la sección anterior. La legislación estadounidense impide la financiación federal de la investigación en clonación, pero ACT es una compañía privada que trabaja sin fondos de la administración federal. ACT afirma que sus experimentos se diseñaron para probar una técnica de producción de embriones humanos que se podrían utilizar en la terapia de trasplantes.

ACT intentó varias técnicas. En primer lugar, comenzó con 19 óvulos humanos de 7 donantes voluntarias encontradas a partir de anuncios colocados por ACT en la prensa local. Los científicos de ACT extrajeron el núcleo de cada óvulo e inyectaron los óvulos desnucleados en el ovario con núcleos de células denominadas *células del cúmulo* que rodean la superficie exterior de los óvulos y ayudan a nutrir los óvulos en desarrollo. En este caso, los óvulos de un conjunto de mujeres sirvieron como células huésped para inyectar núcleos de células del cúmulo de otras mujeres. De 8 óvulos inyectados, 2 se dividieron para transformarse en embriones de 4 células y sólo uno se desarrolló hasta la fase de 6 células, pero no continuó creciendo más allá de esta fase.

ACT también intentó la partenogénesis para crear embriones humanos y de 22 óvulos, 6 se desarrollaron para formar lo que ACT afirmó que se parecía a la fase de blastocisto de los embriones. Sin embargo, ninguno de estos embriones contenía una masa de célula interna que se pudiera usar para aislar células madre. Muchos científicos han tachado los anuncios de ACT de muy prematuros. Los escépticos argumentaron que, dado que los embriones de ACT no progresaron más allá de la fase de 6 células, los embriones fueron defectuosos en su desarrollo y la fusión nuclear no se producía correctamente. Además, los embriones de ACT no doblaban el número de células con cada división como ocurría con los embriones normales, y ACT no produjo células madre de los embriones que crearon.

En el Capítulo 13 tratamos brevemente las controversias en torno al trabajo del doctor Woo Suk Hwang de la National Univerity de Seul (véase «Tú decides» en la página 334). En 2004 el grupo de investigación del doctor Hwang informó de que había clonado un embrión humano mediante clonación por transferencia nuclear de células somáticas y consiguientemente desarrolló una línea celular de células madre embrionarias a partir de este embrión. Estos dos descubrimientos se anunciaron como unos grandes avances porque significaban que la clonación terapéutica ya no era una teoría, sino una realidad. En 2005 el equipo de Hwang publicó un trabajo en el que indicaba que habían clonado con éxito más blastocistos de humanos (cerca de 10 veces más eficaz que en su trabajo anterior). Además, anunciaron que habían creado líneas celulares de células madre que se correspondían de forma idéntica a 11 células donantes de piel distintas con enfermedades diferentes, estableciendo así que se podían producir embriones clonados específicos del paciente y células madre para la clonación terapéutica. Sin embargo, a finales de 2005 quedó claro que se habían falsificado aspectos de la publicación y datos de Hwang. Esto supuso un contratiempo para la investigación con células madre, y la publicación negativa que rodeó a este trabajo continuó aumentando la preocupación entre los grupos de escépticos que se oponían a la investigación con células madre embrionarias. No obstante, recientemente los investigadores de Harvard demostraron que el grupo de Hwang había desarrollado sin darse cuenta la primera línea de ESC derivada de partenogénesis. El análisis genético de las células madre que el laboratorio de Hwang decía que derivaba de un embrión creado por SCNT, revelaba que el embrión se había generado por partenogénesis de un óvulo que había mantenido su núcleo durante el procedimiento SCNT.

A comienzos de 2008, la compañía de biotecnología californiana Stemagen anunció que había usado DNA de células de la piel para crear embriones humanos mediante transferencia nuclear de células somáticas. Estos embriones crecieron hasta un punto en el que estaban listos para implantarse, pero no se implantaron y no se aislaron células madre de los embriones. Stemagen ofreció estos resultados como prueba de que resulta factible generar embriones humanos específicos de donante para la clonación terapéutica. Algunos científicos que investigan con células madre han mostrado una mezcla de optimismo y escepticismo, dados los anuncios fraudulentos del laboratorio de Hwang, hasta que haya más datos de Stemagen que permitan confirmar los resultados.

La regulación relativa a las células madre embrionarias y a la clonación terapéutica en Estados Unidos

La regulación al respecto del uso de células madre y la clonación se trata en el Capítulo 12. Especialmente, consulta «Tú decides» en las páginas 314-315. Aunque existen directrices internacionales sobre la ética de la utilización de las células madre, en la actualidad no existe una política internacional que regule las células ES ni la clonación terapéutica o reproductiva. En agosto de 2001 se prohibió en Estados Unidos utilizar fondos de la administración federal para crear embriones con el objetivo de aislar células madre embrionarias. Esta prohibición mantuvo el uso de fondos públicos para la investigación con 78 líneas celulares que ya se habían establecido. Sin embargo, muchos investigadores creen que estas líneas celulares son mucho menos valiosas de lo que se pensó inicialmente. Se ha sabido que muchas de estas líneas presentan anomalías en el número de cro-

mosomas y están contaminadas con células de soporte de ratones y sólo una docena de ellas parece estar libre de contaminación y disponibles para los investigadores.

Muchos científicos y grupos defensores de las células madre están luchando por levantar la prohibición de usar fondos de la administración federal para crear nuevas líneas de células ES. El proyecto de ley HR 810 propuso expandir la política actual para que incluyera el uso de financiación federal para investigar embriones creados para tratamientos de fertilidad o donados de clínicas FIV y se establecieran nuevas directrices federales para trabajar con células madre. Pasó la votación en el Congreso en 2005, pero no contó con los votos suficientes para salvar un veto presidencial. Después de que el proyecto de ley HR 810 pasara la votación en el Senado en 2006 se encontró con el veto del Presidente Bush. A comienzos de 2007 un nuevo proyecto de ley, HR 3, la ley de mejora de la investigación con células madre, fue aprobada en el Congreso con más votos que el HR 810, pero aún tuvo 37 votos menos de los necesarios para evitar un veto. HR 3 fue aprobado por el Senado (63 a 34), pero no alcanzó la mayoría de dos tercios necesarios para evitar el veto, por lo que recibió también el veto del Presidente.

Muchas fundaciones privadas proporcionan cientos de millones de euros a los investigadores con células madre para que trabajen con células ES, y varias han promulgado legislación para crear institutos de investigación con células madre y para conseguir apoyo financiado por el Estado para investigación con células ES. Entre los estados más activos se incluyen California (en 2004 aprobó la Proposición 71 que aprobaba un presupuesto de casi 300 millones de dólares en bonos y más de 3.000 millones de dólares en general), Nueva Jersey, Connecticut, Illinois, Maryland y Wisconsin. Las leyes sobre la producción de nuevas líneas celulares de células ES y las políticas sobre la clonación terapéutica varían en todo el mundo. Por ejemplo, la producción de nuevas líneas celulares y la clonación terapéutica es legal en el Reino Unido, Israel, Corea del Sur, China y Singapur. La clonación terapéutica está prohibida en Brasil, Australia y la Unión Europea (aunque las células ES se pueden desarrollar a partir de embriones FIV sin utilizar, en los países miembros donde sea legal).

11.5 El Proyecto del Genoma Humano ha dado a conocer genes causantes de enfermedades en todos los cromosomas humanos

Hemos hablado del Proyecto del Genoma Humano en varias secciones de este libro. En el Capítulo 3 vimos cómo se utilizan las técnicas de DNA recombinante para identificar y clonar genes (es posible que quieras revisar el Capítulo 3 antes de leer esta sección) y en este capítulo tomamos en consideración un par de ejemplos sobre cómo se puede usar la biología molecular para las pruebas genéticas. Muchos de los genes causantes de enfermedades que se pueden estudiar actualmente se descubrieron mediante el Proyecto del Genoma Humano, y los científicos han desarrollado «mapas» complejos que muestran la ubicación de los genes normales y enfermos en todos los cromosomas humanos. Concluiremos este capítulo hablando brevemente de cómo los científicos montaron el puzzle del genoma humano.

Montaje del puzle del genoma humano

Dado que un único cromosoma contiene millones de pares de bases, la secuenciación y el montaje de millones de pares de bases para construir un cromosoma completo supone una ardua tarea. Una de las formas de secuenciar un cromosoma completo consiste en un proceso de clonación aleatorio denominado clonación y secuenciación aleatoria (consulta el Capítulo 3, Figura 3.20). En este proceso se corta el DNA cromosómico en partes más pequeñas con varias enzimas de restricción diferentes.

En función del tamaño de cada fragmento de DNA generado mediante digestión con enzimas de restricción, normalmente se clonan fragmentos grandes en cromosomas artificiales de levadura (YAC) o cromosomas artificiales bacterianos (BAC) y los fragmentos más pequeños en vectores plásmidos o cósmicos antes de la secuenciación (Figura 11.26). La idea que subyace a este método consiste en generar y secuenciar partes de fragmentos de DNA de forma aleatoria con la esperanza de secuenciar partes cortas que se solapen. Después se trabaja con ordenadores potentes para buscar y alinear secciones solapadas de DNA de partes individuales cortadas con dos enzimas de restricción. Al completar este puzle genético, es posible reconstruir un cromosoma por medio de la alineación de los fragmentos que se solapan y el montaje de una tira de secuencias que solapan de forma continua (Figura 11.26). Los datos que se obtienen de este tipo de estudio dan como resultado un **mapa de restricción** a modo de mapa físico de partes que solapan y partes de corte de enzimas de restricción en un cromosoma.

Muchos dudaron de que las estrategias al azar se pudieran usar de forma efectiva para secuenciar genomas mayores, pero el desarrollo de esta técnica y nuevas técnicas de secuenciación aceleraron rápidamente el progreso del Proyecto del Genoma Humano. Aunque los métodos al azar resulten efectivos para la secuenciación y mapeado de segmentos de un cromosoma, estos métodos no resultan prácticos para identificar genes que se expresan porque sólo un pequeño porcentaje de DNA humano incluye genes. Gran parte de nuestro genoma contiene DNA no codificante para proteínas. De alguna forma, utilizar un método «Shotgun» para identificar secuencias de genes en el genoma es como buscar una aguja en un pajar. Al trabajar con mRNA los científicos del genoma están estudiando los genes expresados en un tejido y no el DNA codificante sin proteínas. El mRNA se puede copiar a DNA. Recuerda que el DNA copiado se denomina **DNA complementario (cDNA)** porque es idéntico (complementario) a una secuencia de mRNA.

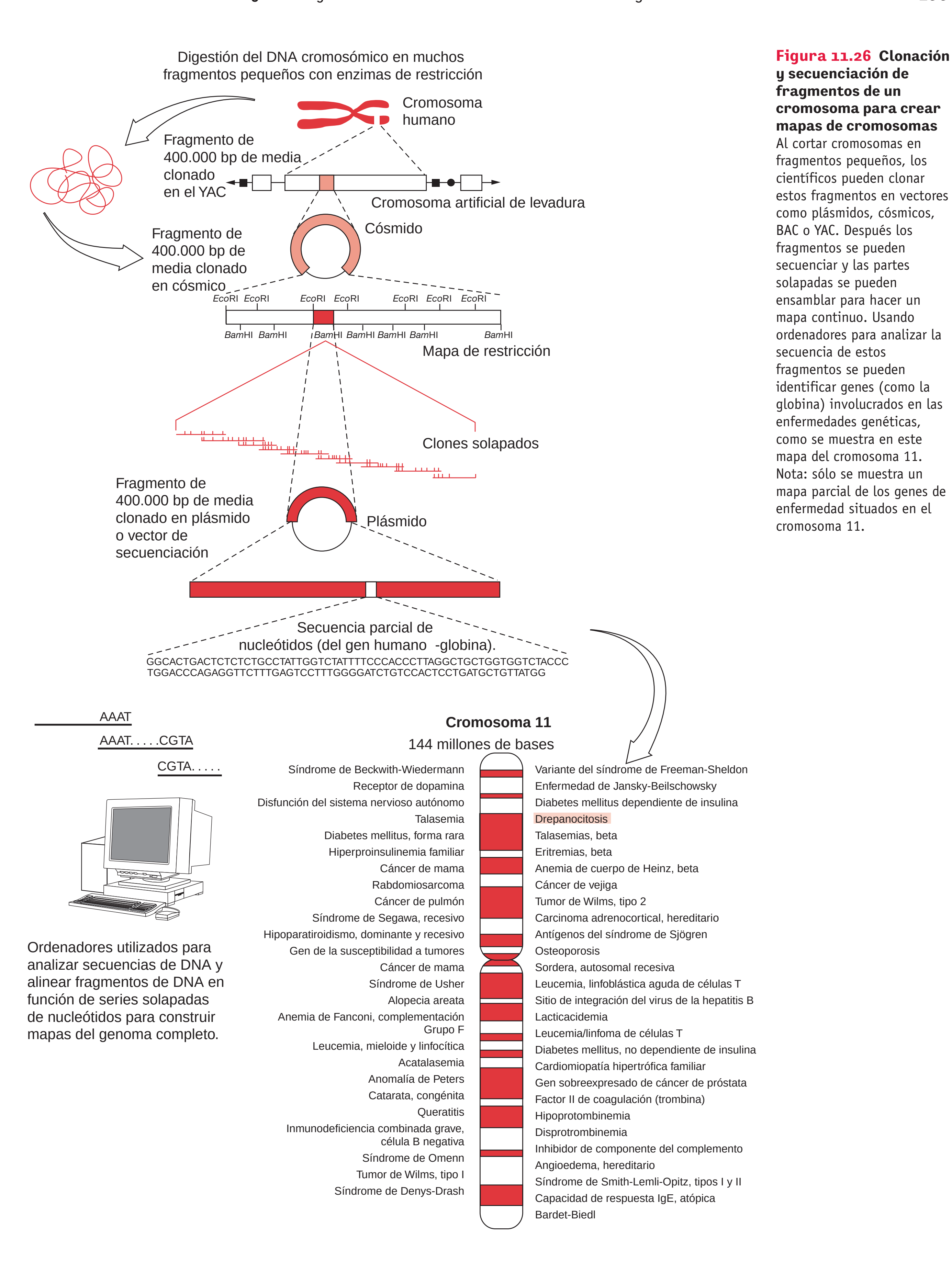


Figura 11.26 Clonación y secuenciación de fragmentos de un cromosoma para crear mapas de cromosomas Al cortar cromosomas en fragmentos pequeños, los científicos pueden clonar estos fragmentos en vectores como plásmidos, cósmicos, BAC o YAC. Después los fragmentos se pueden secuenciar y las partes solapadas se pueden ensamblar para hacer un mapa continuo. Usando ordenadores para analizar la secuencia de estos fragmentos se pueden identificar genes (como la globina) involucrados en las enfermedades genéticas, como se muestra en este mapa del cromosoma 11. Nota: sólo se muestra un mapa parcial de los genes de enfermedad situados en el cromosoma 11.

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Internet para aprender más sobre los cromosomas y los genes humanos

Hemos hablado de la importancia de la bioinformática para analizar la información genética y crear bases de datos que puedan usar los científicos de todo el mundo para compilar, compartir y comparar información sobre secuencias de DNA. La riqueza de las bases de datos gratuitas que catalogan información sobre los cromosomas humanos y los genes, en parte resultado del Proyecto del Genoma Humano, es una gran prueba de ello. Una forma excelente de obtener información acerca de lo que ha revelado el Proyecto del Genoma Humano es revisar algunos de los mapas de cromosomas disponibles en la Web. Por ejemplo, si estás interesado en el cromosoma Y, podrías revisar mapas y descripciones de los genes que se encuentran en él para descubrir por qué este cromosoma es responsable en parte de crear humanos masculinos.

Te animamos a que utilices las páginas Web que se citan aquí para que sigas un cromosoma o un gen de interés durante un par de meses para ver qué tipo de información puedes desvelar. Estas páginas son grandes recursos. Por ejemplo, puedes usarlas para saber más acerca de un gen causante de una enfermedad rara relacionado con una enfermedad que afecte a alguien cercano a ti. Estas páginas presentan información actualizada que no se puede encontrar ni en los libros más recientes. Si no puedes encontrar el gen que buscas en estas páginas, probablemente no se haya identificado aún. Las páginas que se describen aquí se encuentran entre las mejores para aprender sobre los genes humanos causantes de enfermedades y los mapas cromosómicos.

La página del Department of Energy Human Genome Program Information tiene excelentes mapas cromosómicos de genes identificados. Visita www.ornl.gov/hgmis/posters/chromosome para ver mapas básicos de genes humanos. El Online Mendelian Inheritance in Man site (OMIM; www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM) es una gran base de datos de genes humanos y trastornos genéticos. Escribe el nombre de un gen o enfermedad que te interese en el cuadro. Por ejemplo, escribe «breast cancer» (cáncer de mama) y después haz clic en el botón de búsqueda. Cuando aparezca la página siguiente verás una lista de los genes implicados en el cáncer de mama junto con los números de acceso correspondientes que se resaltan en azul como vínculos. Al hacer clic en uno de los vínculos, te aparecerá una gran cantidad de información acerca de ese gen, entre la que se incluye antecedentes, vínculos a ensayos científicos sobre el gen, mapas de genes e incluso datos de secuenciación de proteínas y nucleótidos (cuando estén disponibles). Asimismo, es posible que quieras buscar en esta página para ver si se ha encontrado relación de un gen con un trastorno del comportamiento determinado (por ejemplo, alcoholismo o depresión).

El National Center for Biotechnology Information (NCBI) patrocina la página Web del Genoma Humano (www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human), que te permite tener acceso a mapas de cromosomas detallados y genes causantes de enfermedades mediante una aplicación denominada Map Viewer (visor de mapas). La página del NCBI Genes & Disease (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=gnd&ref=sidebar) también proporciona un conjunto de páginas útiles para los estudiantes sobre los genes humanos causantes de enfermedades que se han asignado a cromosomas.

Las partes de cDNA se pueden secuenciar para producir fragmentos denominados **marcadores de secuencia expresada (EST).** Los EST representan pequeñas partes de DNA secuenciado a partir de genes que se expresan en una célula. Los EST raramente abarcan un gen entero, pero estas partes se pueden usar como etiquetas para determinar la secuencia de un gen completo mediante el montaje de EST solapados, como se muestra en la Figura 11.26. Los EST han desempeñado un papel fundamental en la identificación de genes humanos. Visita la página Web «Sequence Yourself» de NOVA para ver animaciones informativas sobre clonación, secuenciación de DNA y montaje de fragmentos de DNA clonados para crear un mapa físico de un cromosoma como se hizo en el Proyecto del Genoma Humano.

Los avances en el Proyecto del Genoma Humano se vieron acelerados por el desarrollo de instrumentos de secuenciación rápida automatizada por ordenador (consulta la Figura 3.13) que trabajaron ininterrumpidamente para generar grandes cantidades de datos de secuencias. Una vez que el DNA se secuenció, se utilizó la bioinformática para catalogar la información de las secuencias, interpretar las secuencias para determinar si contenían instrucciones de codificación de proteínas y comparar bases de datos de secuencias conocidas para averiguar si esa secuencia ya se ha determinado o si constituye una nueva parte de una secuencia cromosómica.

La Figura 11.26 es una representación general de cómo las secuencias de DNA se pueden determinar a partir de fragmentos de restricción de DNA y cómo se pueden montar los fragmentos de restricción solapados para crear un mapa de cromosomas. Asimismo, esta figura muestra que se identificó una secuencia del gen humano de la globina en el cromosoma 11. Recuerda que la mutación del gen de la globina es la causa de la drepanocitosis. Ten presente también el número de genes causantes de enfermedades que se encuentran en el cromosoma 11.

En la actualidad existen mapas cromosómicos que indican la ubicación de genes normales y de enfermedades importantes (consulta la Figura 1.2). La Figura 11.27 muestra mapas simplificados de cada cromosoma, resaltando 1 ó 2 genes extraídos de cada uno, conocidos por intervenir en enfermedades genéticas humanas. El Proyecto del Genoma Humano ha conducido al desarrollo de

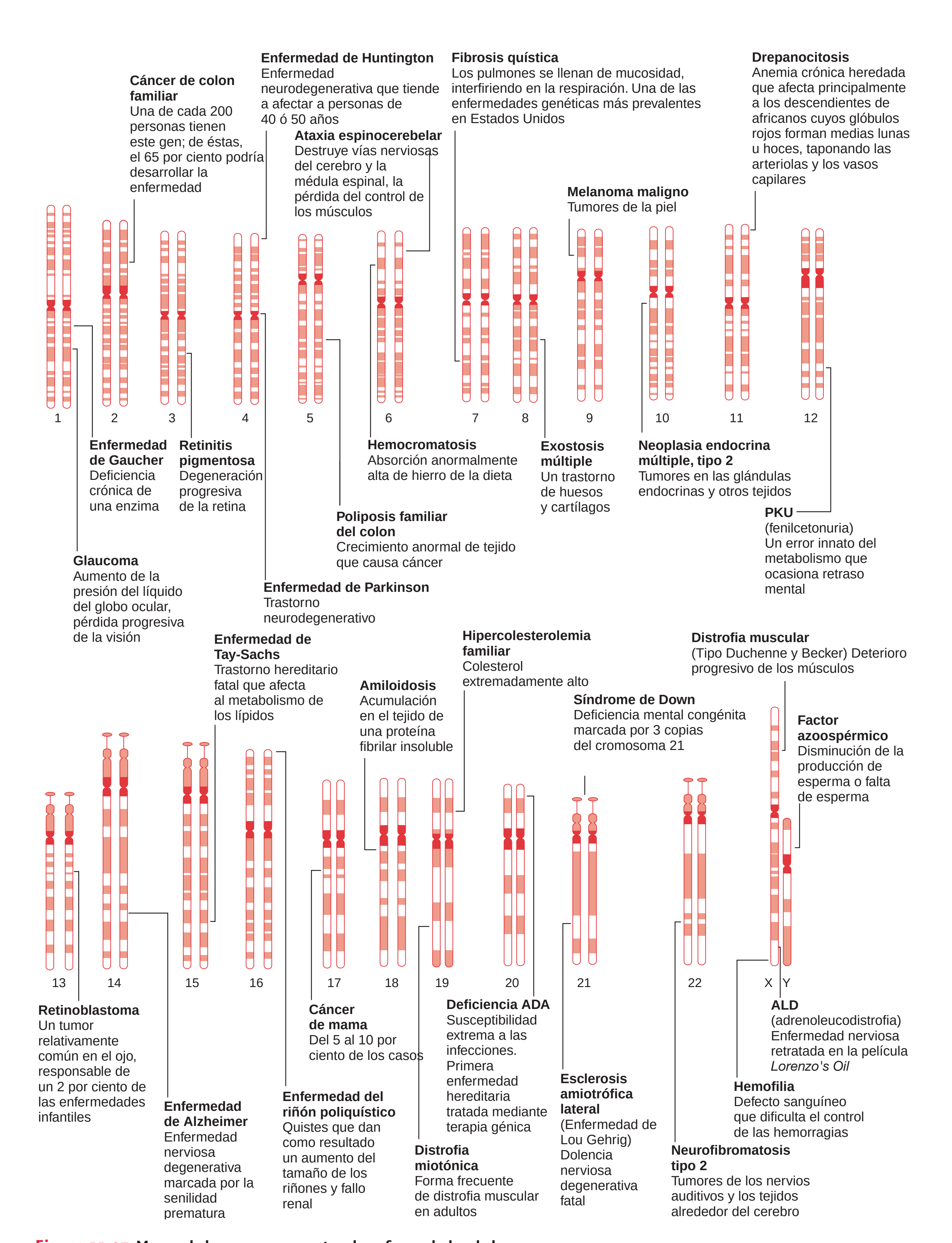
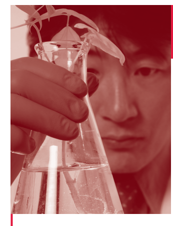


Figura 11.27 Mapas de los genes causantes de enfermedades de los cromosomas humanos Los mapas muestran uno o dos genes de cada cromosoma humano involucrados en enfermedades genéticas. Hay muchos más genes en cada cromosoma que los que se muestran en esta figura. Nota: Los cromosomas no están dibujados a escala.



PERFIL PROFESIONAL

Opciones profesionales en biotecnología médica

La biotecnología médica ofrece una amplia variedad de opciones profesionales, principalmente en compañías farmacéuticas y de biotecnología. Los expertos de la industria sugieren que los estudiantes interesados en hacer carrera en el campo de la biotecnología médica identifiquen un área de interés y después adquieran la experiencia laboral y personal que les ayude a cumplir con las necesidades de la compañía. Se valora especialmente la formación en química, biología celular, biología molecular, bioquímica y bioinformática. Además de la correcta formación académica, se recomienda encarecidamente unas prácticas o una beca de investigación de verano en una compañía química, farmacéutica o biotecnológica de ámbito local.

Si es posible, trabaja en un proyecto de investigación con un profesor mientras eres estudiante universitario. La investigación universitaria da la oportunidad de aprender a planificar proyectos de investigación, ejecutar y solucionar problemas de experimentos e interpretar datos. Esa investigación podría incluso darte la oportunidad de realizar presentaciones en reuniones regionales o nacionales (una gran forma de interactuar y hacer contactos con otros científicos) o incluso de hacer alguna publicación. Tu director de investigación también te puede servir de gran ayuda a la hora de encontrar tu primer trabajo.

Los expertos en contratación recomiendan encarecidamente que los estudiantes analicen compañías de diversos tamaños para tener una idea del tipo de trabajo y el tamaño de la compañía que les atrae. Los estudiantes deberían informarse acerca de las compañías que más les interesan. ¿Te interesa el descubrimiento y desarrollo de fármacos, las terapias génicas o celulares, la investigación contra el cáncer, la investigación sobre el envejecimiento, los materiales quirúrgicos, la genómica o la curación de enfermedades infantiles? ¿Preferirías una gran compañía a una más pequeña y personalizada o incluso una empresa de biotecnología recién creada?

Plantéate lo que quieres hacer y después identifica compañías cuyos requisitos sean compatibles con tus aptitudes. Con la riqueza de información disponible en Internet, esto es más fácil que nunca. La mayoría de las compañías biotecnológicas tienen páginas Web. En el Capítulo 1 presentamos unos excelentes vínculos a estas páginas. En una entrevista, demostrar un poco de conocimiento del área y un verdadero interés por la compañía puede llamar la atención del entrevistador.

Existen muchas oportunidades laborales de primer empleo en biotecnología médica para licenciados. Muchos comienzan como técnicos de laboratorio. En algunas compañías este puesto comprende procedimientos rutinarios como preparar soluciones y materiales para experimentos, pero los empleados que muestran iniciativa a menudo asumen mayores responsabilidades en proyectos de investigación. Los científicos desarrollan nuevos productos y procedimientos, a menudo trabajando directamente en la investigación básica del laboratorio dirigiendo investigaciones. Sin embargo, en algunas compañías, los científicos pueden hacer demostraciones de productos *in situ* y presentar seminarios técnicos para potenciales clientes. Asimismo, los científicos a menudo trabajan en el área de las relaciones con los clientes, enseñando a los clientes cómo solucionar problemas, interpretar datos, etc. Los científicos clínicos colaboran con los médicos e investigadores para ayudar a realizar ensayos clínicos para probar un nuevo fármaco o medicamento. Asimismo, las compañías de biotecnología médica emplean personas que quieren combinar el interés científico con sus habilidades para los negocios en puestos de *marketing* y ventas.

El proceso de selección es muy riguroso en la mayoría de las compañías del ramo. Las empresas quieren personas muy organizadas, sistemáticas y atentas a los detalles. La investigación en biotecnología médica es un trabajo de equipo. Se considera fundamental saber redactar y hablar correctamente porque estarás trabajando con otras personas de forma rutinaria e interactuarás tanto de forma escrita como verbal. Además, casi todas las compañías farmacéuticas o biotecnológicas buscan gente con buenos conocimientos informáticos que puedan trabajar con equipos de ingenieros de *software* e informáticos para crear nuevo *software* para gestionar y almacenar datos, probar hipótesis y modelar estructuras moleculares.

Los trabajadores del ramo señalan que el entusiasmo, la capacidad de usar nuevos métodos para solucionar problemas y el compromiso con el crecimiento profesional son herramientas valiosas que las compañías buscan en los candidatos. Se desean candidatos que se muestren entusiasmados y deseosos ante el reto de aplicar sus habilidades en el trabajo de equipo para solucionar problemas. Incluso si la formación académica de un candidato no coincide exactamente con lo requerido para un puesto determinado, lo cual suele ser el caso, el entusiasmo y el deseo de aprender pueden inclinar la balanza a favor del candidato. Las biotecnológicas buscan candidatos que quieren destacar. Si tienes un ferviente deseo de usar la ciencia para contribuir a mejorar la salud humana, tal vez deberías plantearte hacer carrera en el campo de la biotecnología médica.

proyectos de continuación como el **Proyecto del Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA),** un exhaustivo esfuerzo por identificar alteraciones genómicas presentes en gran variedad de cánceres diferentes. Los científicos están especialmente interesados en los cambios genéticos que desencadenan las células normales para convertirse en células cancerígenas del cerebro, los ovarios y los pulmones porque los cánceres de estos órganos afectan a gran número de estadounidenses. Finalmente, los científicos esperan que la nueva información del TCGA se utilice para mejorar el diagnóstico y el tratamiento del cáncer.

Qué y quiénes somos es claramente mucho más que el número total de nuestros genes. Ser humano es mucho más complicado que nuestro genoma (somos infinitamente más complejos que la mera suma de nuestros genes y partes corporales). Lo que nos define genéticamente es la complejidad de la forma en que se usan nuestros genes y cómo las proteínas interactúan entre sí para dotarnos de la gran cantidad de funciones y las características únicas de las criaturas que denominamos humanos. El Proyecto del Genoma Humano nos ha facilitado un conocimiento sin precedentes acerca de los cromosomas humanos y los genes que contienen. Sin embargo, aún queda mucho trabajo por hacer para determinar el funcionamiento de la mayoría de los genes humanos y las formas complejas en que funcionan las proteínas codificadas por nuestros genes para desempeñar papeles importantes en las actividades celulares normales, así como en las enfermedades.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. ¿Cómo se pueden utilizar las técnicas de biología molecular para identificar enfermedades genéticas en fetos o adultos humanos? Cita dos ejemplos.
2. ¿Qué es la terapia génica? Explica las diferencias entre la terapia génica *ex vivo* e *in vivo* y da un ejemplo de una enfermedad genética humana tratada con cada método. Cita dos ejemplos de cómo se pueden administrar genes terapéuticos a las células y habla de los retos que tienen que resolver los científicos para hacer de la terapia génica una técnica eficaz para tratar enfermedades genéticas humanas.
3. Compara y contrasta las células madre embrionarias y adultas. Incluye una explicación sobre el origen de cada tipo de célula madre y cómo se puede aislar cada tipo. Da dos ejemplos de cómo se podrían usar las células madre para ayudar a tratar las enfermedades humanas.
4. Compara y contrasta la clonación terapéutica y la clonación reproductiva preparando una tabla donde figuren los pros y los contras de cada técnica.
5. Define la farmacogenómica y explica de qué forma puede cambiar la sanidad en el futuro.
6. Describe brevemente en qué medida el Proyecto del Genoma Humano dará como resultado avances en la biotecnología médica.
7. Visita Clinical Trials.gov y busca tratamientos con Mab que se estén llevando a cabo en ensayos clínicos. Visita la página de la American Society for Gene Therapy para buscar ensayos clínicos actuales de terapia génica.
8. Describe dos técnicas de silenciamiento de genes y cómo se pueden utilizar para la terapia génica.
9. ¿Qué es la medicina regenerativa?
10. ¿Qué son los SNP? ¿Cómo se pueden usar para diagnosticar las enfermedades genéticas humanas?

Bibliografía y lecturas complementarias

Colavito, M. C. (2007). *Gene Therapy.* M. A. Palladino, Ed.,San Francisco, CA: Benjamin Cummings.

Collins, F. S., and Barker, A. D. (2007). Mapping the CancerGenome. *Scientific American,* 296: 50–57.

Cowan, C. A., Atienza, J., Melton, D. A., et al. (2005). Nuclear Reprogramming of Somatic Cells After Fusion with Human Embryonic Stem Cells. *Science,* 309: 1369–1373.

De Coppi, P., Bartsch, G., Siddiqui, M. M, et al. (2007). Isolation of Amniotic Stem Cell Lines with Potential for Therapy. *Nature Biotechnology,* 25: 100–106.

Dykxhoorn, D. M., and Lieberman, J. (2006). Knocking Down Disease with siRNAs. *Cell,* 126: 231–235.

Friend, S. H., and Stoughton, R. B. (2002). The Magic of Microarrays. *Scientific American,* 286: 44–53.

Gilbert, D. M. (2004). The Future of Human Embryonic Stem Cell Research: Addressing Ethical Conflict with Responsible Scientific Research. *Medical Science Monitor,* 10: RA99–103.

Hacein-Bey-Abina, S., Von Kalle, C., Schmidt, M., et al. (2003). LM02-Associated Clonal T Cell Proliferation in Two Patients After Gene Therapy for SCID-X1. *Science,* 302: 415–419.

Hanna, J., Wernig, M., Markoulaki, S., et al. (2007). Treatment of Sickle Cell Anemia Mouse Model with iPS Cells Generated from Autologous Skin. *Science,* 318: 1920–1923.

Langer, R. (2003). Where a Pill Won't Reach. *Scientific American,* 288: 50–57.

Lau, N. C., and Bartel, D. P. (2003). Censors of the Genome. *Scientific American,* 289: 34–41.

Meissner, A., Wernig, M., and Jaenisch, R. (2007). Direct Reprogramming of Genetically Unmodified Fibroblasts into Pluripotent Stem Cells. *Nature Biotechnology,* 25: 1177–1181.

Nettelbeck, D. M., and Curiel, D. T. (2003). Tumor-Busting. *Scientific American,* 289: 68–75.

Palladino, M. A. (2006). *Understanding the Human Genome Project,* 2/e. San Francisco, CA: Benjamin Cummings.

Seeman, N. D. (2004). Nanotechnology and the Double Helix. *Scientific American,* 290: 64–75.

Shamblott, M. J., Axelman, J., Wang, S., et al. (1998). Derivation of Pluripotent Stem Cells from Cultured Human Primordial Germ Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.,* 95: 13726–13731.

Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., et al. (2007). Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell,* 131: 861–872.

Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., et al. (1998). Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science,* 282: 1145–1147.

Tribut, O., Lessard, Y., Reymann, J-M., et al. (2002). Pharmacogenomics. *Medical Science Monitor,* 8: RA152–163.

Yu, J., Vodyanik, M.A., Smuga-Otto, K., et al. (2007). Induced Pluripotent Stem Cell Lines from Human Somatic Cells. *Science,* 318: 1917–1920.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo **12**

Regulación en biotecnología

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Describir el proceso de concesión de permisos del APHIS (USDA), incluidas las precauciones que se deben adoptar para impedir la liberación accidental de plantas de bioingeniería al medioambiente.
- Enumerar los seis criterios que se deben cumplir antes de que una planta sea apta para «notificación», de conformidad con las directrices de APHIS.
- Describir el papel de la EPA en la regulación de los productos biotecnológicos.
- Describir el papel de la FDA en la regulación de los alimentos y los aditivos alimentarios que se producen mediante biotecnología.
- Describir el papel de la FDA en la regulación de productos farmacéuticos, entre los que se incluyen las pruebas de fase.
- Citar ejemplos de la capacidad de las agencias de regulación para responder de forma expeditiva a las situaciones emergentes.
- Describir la función de las patentes en la ciencia y explicar la forma en que las patentes fomentan los descubrimientos.
- Explicar por qué las secuencias de DNA se consideran patentables.



Inspector de la FDA trabajando. La FDA es una de las agencias del gobierno estadounidense responsables de evaluar la seguridad de los productos biotecnológicos.

La utilización de un fármaco mal etiquetado o el consumo de un alimento contaminado pueden provocar la muerte. La opinión pública mira al gobierno federal estadounidense para que promulgue y haga cumplir leyes que proporcionan protección frente a fármacos y alimentos inseguros o ineficaces. El gobierno regula los productos médicos y los alimentos, y estas regulaciones tienen un profundo impacto en el campo de la biotecnología, especialmente en Estados Unidos. Normalmente se tarda años en probar un nuevo fármaco para garantizar que es seguro y eficaz. Entre tanto, se pierden vidas que los nuevos fármacos podrían haber salvado. Deshacerse de alimentos marginales tiene un coste, así como lo tiene la disminución en la productividad agrícola debido a que no se utilizan herbicidas potencialmente tóxicos. Estamos claramente ante un conflicto entre garantizar la seguridad y reducir los costes. Los nuevos e innovadores productos como los producidos por métodos de biotecnología prometen algunos beneficios y plantean algunos riesgos. Cuando el ex presidente Bill Clinton y el ex Primer ministro del Reino Unido, Tony Blair, se comprometieron a limitar las patentes de la secuencia génica, entre otras cosas, compartiendo la información obtenida por los investigadores que trabajan en el Proyecto del Genoma Humano, el pánico se extendió por la industria de la biotecnología, lo que condujo a una venta generalizada de las reservas de productos biotecnológicos. Muchos aplauden una restricción en las patentes de las secuencias de genes porque argumentan que las patentes son inaceptables moralmente. El punto principal del debate reside en lo que se entienda por algo «patentable». Es posible que tu opinión cambie después de informarte sobre las protecciones y patentes de este capítulo.



Figura 12.1 Medicinas patentadas La opinión pública mira al gobierno federal estadounidense para que promulgue y haga cumplir leyes que proporcionan protección frente a fármacos y alimentos inseguros o ineficaces. La historia de las nuevas regulaciones se produce después de tragedias provocadas por productos no regulados (como el que se anuncia arriba).

12.1 El marco regulador

Durante el siglo XIX en Estados Unidos los vendedores ambulantes promocionaron libremente sus medicinas patentadas (véase un ejemplo divertido en la Figura 12.1), pero a menudo su preocupación principal era escapar de los pueblos antes de que las autoridades repararan en que la mayoría de estas supuestas medicinas en realidad eran estafas. Al mismo tiempo, muchas de las grandes compañías estaban contaminando el medioambiente (a menudo sin tener conocimiento del resultado a largo plazo de sus acciones). Cuando se produjeron desastres o la opinión pública reaccionó, el gobierno ya no pudo ignorar los principales acontecimientos de la seguridad pública y acabó creando las agencias de protección. Las nuevas agencias federales se encargaron de supervisar la seguridad de los alimentos y las medicinas, y de proteger el medioambiente de los contaminadores. Hoy en día estas agencias regulan las mismas industrias.

A diferencia de los primeros protocolos reguladores tradicionales desarrollados tras los desastres, cuando la biotecnología surgió como un campo de investigación ya existía un sistema regulador para supervisar la industria: la conferencia de Asilomar de 1974 fue una reunión voluntaria de los propios investigadores para establecer directrices que se produjo cuando algunos de los que trabajaban en la transferencia genética vieron el potencial de extender los genes de enfermedad y no existían salvaguardas. El Instituto Nacional de Salud estadounidense (NIH, por sus siglas en inglés) fue la primera agencia federal que asumió la responsabilidad reguladora sobre la biotecnología. Entre otras cosas, el NIH publicó directrices de investigación para las técnicas de DNA recombinante. Recuerda del Capítulo 3 que el Consejo consultivo de DNA recombinante del NIH establece las directrices para trabajar con DNA recombinante y organismos recombinantes en el laboratorio. El NIH continuó controlando y revisando todas las investigaciones sobre el DNA hasta 1984. En ese momento, el gobierno estadounidense publicó el «Marco coordinado para la regulación de la biotecnología», que convirtió la investigación en biotecnología en una responsabilidad conjunta del NIH, el USDA y la EPA.

Este innovador informe propuso que los productos biotecnológicos se regularan de forma semejante a los productos tradicionales. Por ejemplo, las plantas creadas por bioingeniería se someterían al control de las mismas agencias que regulan otras plantas y los fármacos de la bioingeniería se regularían por las mismas reglas que se aplican al resto de fármacos. En esencia, este informe propuso que los productos de la biotecnología no plantearan asuntos reguladores y científicos que fueran sustancialmente diferentes de los que plantean los productos tradicionales. Este concepto resulta fundamental para comprender la regulación de la biotecnología en Estados Unidos. Establecido como una política formal en 1986, el «Marco coordinado para la regulación de la biotecnología» describe el sistema federal para examinar los productos desarrollados mediante la utilización de la biotecnología moderna. El marco se basa en leyes sanitarias y de seguridad desarrolladas para afrontar las clases específicas de productos. Tres agencias se responsabilizan de la mayoría de los productos resultantes de la biotecnología: el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), la Agencia de Protección Medioambiental (EPA, por sus siglas en inglés) y la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés). El USDA se asegura de que es seguro cultivar un organismo, la EPA comprueba que es seguro para el medioambiente y la FDA determina si es seguro consumirlo (véase la Tabla 12.1). Estas tres agencias cooperan para alcanzar sus objetivos y a menudo todas participan en la supervisión y la regulación de un producto biotecnológico. Visita la página de Estudios de casos prácticos (que figura en la pág. Web adjunta) para ver ilustraciones detalladas del trabajo en equipo de estas agencias. Aunque a menudo se dice de las burocracias que son lentas para el cambio y para la actuación es importante comprender que el proceso regulador se perfecciona constantemente para garantizar la seguridad de los productos, tanto los creados por bioingeniería como los tradicionales. En este capítulo tratamos ejemplos específicos que demuestran la capacidad de respuesta del sistema a las tecnologías, los riesgos y las necesidades emergentes.

Comenzaremos nuestro estudio de la regulación de la biotecnología analizando la responsabilidad de cada una de las tres agencias reguladoras principales. Asimismo, tendremos en cuenta el papel que desempeña la legislación federal estadounidense en la creación de nuevas regulaciones para la industria. Después hablaremos de las patentes y su papel a la hora de promocionar la investigación en biotecnología. Finalmente, analizaremos el mercado global como un contexto para el desarrollo de la biotecnología en Estados Unidos.

Tabla 12.1 PRINCIPALES AGENCIAS REGULADORAS FEDERALES DE ESTADOS UNIDOS

Supervisión reguladora de la agencia de productos biotecnológicos	Producto regulado
Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA)	Plantas, plagas de plantas (incluidos los microorganismos), vacunas animales
Agencia de Protección Medioambiental (EPA)	Pesticidas microbianos/para plantas, otras sustancias tóxicas, microorganismos, animales productores de sustancias tóxicas
Administración de Alimentos y Fármacos (FDA)	Alimentos, alimentos para animales, aditivos alimentarios, fármacos para humanos y animales, vacunas para humanos, dispositivos médicos, animales transgénicos, cosméticos

Leyes principales que otorgan poderes a las agencias federales para regular la biotecnología

Ley	Agencia
Ley de protección de plantas	USDA
Ley de inspección de productos cárnicos	USDA
Ley de inspección de productos avícolas	USDA
Ley de inspección de productos con huevo	USDA
Ley relativa a los virus, sueros y toxinas	USDA
Ley federal de insecticidas, fungicidas y rodenticidas	EPA
Ley de control de sustancias tóxicas	EPA
Ley de alimentos, fármacos y cosméticos	FDA, EPA
Ley de servicios de salud pública	FDA
Ley de suplementos dietéticos, salud y educación	FDA
Ley nacional de protección del medioambiente	USDA, EPA, FDA

Fuente: www.fda.gov.

12.2 El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA)

Creado en 1862, el USDA tiene muchas funciones relacionadas con el avance y la regulación de la agricultura, entre las que se incluyen la regulación de plagas, plantas y productos biológicos veterinarios. Un producto **biológico** se define generalmente como un preparado médico hecho a partir de organismos vivos o sus productos. La insulina y las vacunas son ejemplos de productos biológicos.

El Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (APHIS)

El **Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (APHIS)** por sus siglas en inglés) es la rama del USDA responsable de proteger la agricultura estadounidense de plagas y enfermedades. Dado que los insectos y las plantas creados mediante ingeniería genética son invasivos en potencia, se tratan como plagas de las plantas y se someten a la regulación de la agencia, de conformidad con los requisitos de la Ley federal de plagas de plantas. El APHIS concede permisos para el desarrollo y la realización de pruebas en terreno de plantas desarrolladas mediante ingeniería genética. Si un organismo experimental plantea una amenaza en potencia para la agricultura preexistente, la agencia se asegura de que existan salvaguardas.

El proceso de concesión de permisos

Una vez que se ha desarrollado una nueva planta en un laboratorio, el APHIS necesita de varios años de **pruebas en terreno** para investigar todo acerca de las plantas, incluidos la resistencia a las enfermedades, la tolerancia a la sequía y el ritmo de reproducción. El APHIS no aprobará una solicitud de una prueba en terreno a menos que se adopten precauciones para evitar una polinización cruzada por accidente. Este requisito puede suponer una tarea relevante. Por ejemplo, los campos de plantación de prueba para el maíz transgénico deben estar al menos a una milla de los campos en los que se cultiva la semilla de maíz. Un perímetro de 7,62 metros de tierra en barbecho (no plantada, labrada) debe rodear todo el campo de pruebas. En algunos casos, las borlas de los extremos de las orejas de maíz se deben embolsar para confinar el polen (como se ve en la Figura 12.2) y después se deben retirar las propias borlas. Además, no se permite que ninguna planta escape del campo de pruebas, lo que significa que todas las plantas «voluntarias» que vuelven a sembrar semillas se deben destruir y que ninguna planta, o incluso partes de las plantas pueden arrancarse a menos que se vayan a destruir. A modo de precaución adicional, todo el campo de pruebas se suele mantener en barbecho para la temporada siguiente a la cosecha del cultivo de prueba. Los empleados del APHIS inspeccionan el sitio antes, durante y después de las pruebas para asegurarse de que todas las pruebas se realizan de conformidad con los requisitos. A modo de ejemplo tenemos el hecho de que en 2002 se requirió a dos agricultores de Iowa y Nebraska que destruyeran todas las semillas de maíz producidas en campos donde habían cultivado con anterioridad soja transgénica para la extracción de proteínas (anticuerpo humano), pero no retiraron un par de plantas «voluntarias» que podrían haber contaminado el cultivo de semillas de maíz posterior (como le exigía el USDA). Se les multó con 250.000 dólares por cada infracción. El caso demuestra que los reguladores están atentos y las regulaciones se hacen cumplir.



Figura 12.2 Normativa APHIS en acción Maíz cultivado en un campo con borlas embolsadas para evitar la polinización de plantas no deseadas de campos cercanos, de conformidad con las regulaciones del Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (APHIS) del USDA.

El proceso investigador del APHIS

Por supuesto, el objetivo último de un agricultor es cultivar un producto que pueda vender. El primer paso en este proceso consiste en solicitarle al APHIS el **estatus desregulado** (o no regulado). Las plantas producidas mediante ingeniería genética con este estatus se controlan de la misma forma que las plantas tradicionales. Antes de conceder este estatus, el APHIS repasa los informes del campo de pruebas, la documentación científica y otros registros pertinentes antes de determinar si la planta se puede cultivar de una forma tan segura como las variedades tradicionales.

El APHIS tiene en cuenta tres áreas principales mientras evalúa la solicitud de desregulación:

1. *Consecuencias para plagas vegetales.* El APHIS examina la biología de la planta para evaluar las posibles amenazas para otras plantas. Esto se conoce como los riesgos de «plagas vegetales». La agencia investiga la posibilidad de que el nuevo material genético pueda provocar una nueva enfermedad vegetal. Asimismo, toma en consideración si el cruce de plantas con plantas nativas podría crear nuevas «supersemillas».

2. *Riesgos para otros organismos.* La agencia investiga el riesgo para la vida salvaje y los insectos que pueden alimentarse del cultivo o estar expuestos al polen.
3. *Consecuencias de malas hierbas.* Finalmente, la agencia tiene en cuenta la posibilidad de que la nueva planta no sea bienvenida e invasiva (en otras palabras, una mala hierba). Las estrategias reproductivas de la planta resultan de especial importancia. Una planta que vuelve a sembrar semillas rápidamente puede diseminar sus semillas, y ser resistente al frío y la sequía supone un problema real para el futuro. Por ejemplo, si el diente de león fuera una planta creada mediante la biotecnología, se rechazaría debido a su gran facilidad de propagación.

El proceso de notificación

Hay un sistema alternativo vigente que permite seguir la pista rápidamente a los nuevos productos agrícolas. Esta alternativa se denomina **notificación.** Se deben cumplir seis criterios antes de que la notificación se convierta en una opción.

1. El nuevo producto agrícola debe ser solo uno de una serie limitada de especies de plantas elegibles. Estas especies, entre las que se encuentran el maíz, el algodón, las patatas, la soja, el tabaco y los tomates se han estudiado con detenimiento en estudios anteriores y la mayoría de sus características son bien conocidas.
2. El nuevo material genético se debe confinar al núcleo de la nueva planta. No puede estar flotando en la célula en plásmidos o vectores virales (los genes del núcleo tienden a permanecer con la nueva planta creada mediante ingeniería). Véase el Capítulo 3 para recordar los vectores utilizados en la ingeniería genética de plantas.
3. Se debe conocer la función de los genes que se introducen y la proteína que se expresa *no* puede provocar enfermedades en las plantas.
4. Si el nuevo producto agrícola se va a utilizar para alimentación, los nuevos genes no pueden provocar la producción de una toxina, una enfermedad infecciosa o cualquier sustancia que se use en medicina. (Véase el ejemplo anterior en la sección «El proceso de concesión de permisos»).
5. Si el gen se deriva del virus de una planta, no puede tener potencial para crear un nuevo virus.
6. El nuevo material genético no se debe derivar de virus animales o humanos (para evitar la propagación como una nueva enfermedad humana).

Si una planta creada mediante bioingeniería cumple estos seis criterios, la agencia aprueba el ensayo de campo en un plazo de 30 días. Tras la notificación, el desarrollador de la planta aún debe cumplir con los estándares que se exigen de conformidad con el proceso de concesión de permisos. Se deben tomar las mismas precauciones para evitar la propagación accidental de la nueva planta y se deben mantener registros detallados del ensayo.

Una vez determinada la seguridad de la nueva planta, un agricultor puede cultivar, probar o utilizar la planta para cruzarla sin control ni aprobación del APHIS. Después, el nuevo producto biotecnológico se puede llevar al mercado. No obstante, es posible que estos requisitos no constituyan todo lo necesario, ya que la EPA regula todos los productos nuevos que se introducen en el medioambiente.

12.3 La Agencia de Protección Medioambiental (EPA)

Fundada en 1970, la EPA se responsabiliza desde la protección de especies en peligro hasta de establecer los estándares de emisión de gases de los automóviles. Otra de sus tareas fundamentales consiste en regular los pesticidas y los herbicidas. Como extensión natural de esa responsabilidad, la EPA regula cualquier planta creada mediante ingeniería genética para expresar proteínas que posibiliten el control de plagas. Por ejemplo, la EPA controla la producción de una patata recientemente aprobada resistente al escarabajo de la patata y al virus del enrollado de la patata, producida mediante la transferencia del plásmido Bt, como vimos en el Capítulo 6. Asimismo, la EPA supervisa el uso de plantas tolerantes a los herbicidas. En este caso, la EPA está interesada no sólo en la planta, sino también en los herbicidas que se utilizarán en los campos en los que se cultivan las plantas tolerantes a los herbicidas. Los residuos de pesticidas que permanecen en el cultivo tienen una importancia especial. La EPA controla estos niveles para asegurarse de que el propio cultivo es seguro para el consumo. Se requiere tanto la aprobación del USDA (APHIS) como de la EPA para ejemplos como los que se muestran en la Figura 12.3.

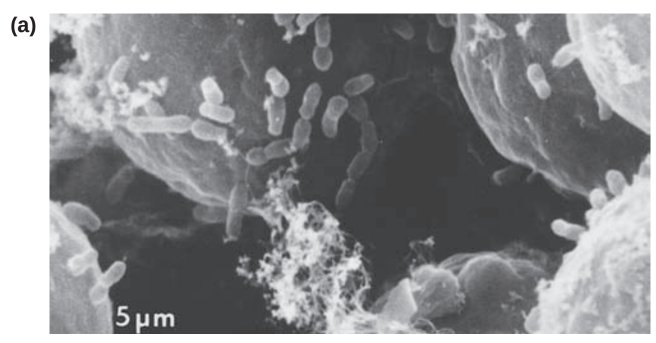
Permisos de uso experimental

Los generadores de plantas que planean crear una planta que exprese proteínas de pesticida deben ponerse en contacto en primer lugar con la EPA. Los experimentos de campo que comprenden 40 km^2 o más de terreno o 4 km o más de agua no se pueden llevar a cabo sin un **permiso de uso experimental (EUP)** concedido por la agencia. Los EUP necesitan mantener un registro cuidadoso porque la planta no se puede registrar para usarse como pesticida sin disponer de datos claros de que no habrá «efectos adversos no razonables», tal como define la ley de pesticidas de Estados Unidos. En otras palabras, las propias plantas deben cumplir los mismos estándares que los pesticidas químicos utilizados en los campos.

El primer permiso de uso experimental

En julio de 1985 la compañía Advanced Genetic Sciences solicitó el primer permiso de uso experimental relacio-

(a)



(b)

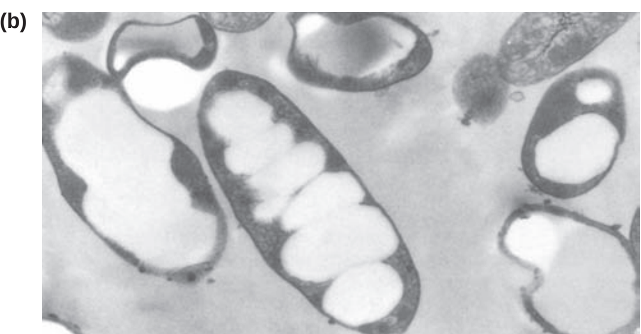


Figura 12.3 Liberación al medioambiente de organismos modificados genéticamente El USDA (APHIS) y la EPA reconocen y regulan la preocupación de que los organismos modificados genéticamente puedan tener efectos adversos en los cultivos o el medioambiente. (a) Célula vegetal infectada por *Bacillus thuringiensis*. (b) Una célula que produce polihidroxialcanoatos (un bioplástico).

nado con organismos modificados genéticamente. La compañía desarrolló dos cepas modificadas genéticamente de bacterias naturales que podrían proteger potencialmente los cultivos de las heladas. Los científicos sabían desde hace tiempo que las bacterias naturales producen una proteína que ayuda (inicia el crecimiento de) a los cristales de escarcha de las semillas. Las bacterias modificadas no producían esta proteína. Los cultivos a los que se les aplicó estas bacterias inofensivas podían en principio sobrevivir a temperaturas por debajo de la congelación y aún producir fruta. Recuerda del Capítulo 6 que los estudios de campo con estas bacterias «antiescarcha» fueron muy controvertidos. De forma un tanto sorprendente, estas bacterias cayeron bajo los auspicios de la EPA. Las bacterias causantes de la congelación se consideraron plagas, de forma que las nuevas bacterias se clasificaron como «pesticidas». La EPA aprobó las pruebas de campo con la condición de que los investigadores tomaran las máximas precauciones para evitar la expansión de la bacteria. Las bacterias se aplicaron a un terreno de 800 metros rodeado por una zona tope de tierra yerma de 15 metros de ancho. Se incluyó un total de 2.400 plantas de fresa en la prueba. Las personas que aplicaron las bacterias llevaban ropa protectora (como se muestra en la Figura 12.4) y aplicaron las bacterias con rociadores manuales de baja presión. Se tomaron numerosas muestras de control dentro y fuera del terreno de prueba en el momento de la aplicación y durante un año después. Los ensayos de campo fueron todo un éxito y las bacterias finalmente se introdujeron



Figura 12.4 Rociadores de la bacteria «antiescarcha» protegidos según los requisitos de la EPA En el primer caso de una prueba medioambiental de organismos modificados se utilizaron «trajes lunares» como los de la imagen para proteger a los rociadores contra los peligros biológicos de aplicar bacterias «antiescarcha» a las plantas de la fresa.

en el mercado en 1992. Este caso sentó precedente para las futuras aplicaciones agrícolas de la biotecnología.

Aprobación y comercialización

La próxima fase del proceso es la comercialización, durante la cual el producto se aprueba para introducirse en el mercado. Sin embargo, antes de que un producto pueda venderse, la EPA pasa cerca de un año revisando los datos recogidos durante los experimentos. Esta revisión se concentra en cuatro áreas generales de interés. En primer lugar, la EPA tiene en cuenta la fuente del gen, cómo se expresa y la naturaleza de la proteína pesticida producida. En segundo lugar, se estudian en profundidad los efectos para la salud de la planta producida mediante bioingeniería. Los experimentadores utilizan ratones para medir el impacto de la proteína en organismos vivos, incluido la facilidad con que se digiere la proteína y si puede provocar alergias. En tercer lugar, dado que la EPA se responsabiliza de proteger el medioambiente en general, la agencia también debe investigar el «destino medioambiental» de la proteína pesticida. Una de las preocupaciones es el ritmo de degradación del pesticida y si permanece en la tierra o el agua. Otro asunto es la posibilidad de que la proteína pesticida pueda escapar a través de la polinización cruzada con malas hierbas en una mala hierba superior. Cuarto, la EPA también se interesa por los efectos en especies que no son objetivos. Entre estas especies se pueden encontrar insectos útiles como las abejas y las mariquitas, así como otros animales entre los que se incluyen peces, pájaros y roedores.

Al igual que el USDA, la EPA puede conceder estatus de sin regulación a cualquier planta que cumpla los requisitos de todas estas pruebas. Cualquier planta creada mediante ingeniería con estatus no reglado se registra en la EPA y se puede vender o distribuir como cualquier otra planta. No obstante, incluso en estos casos, la misión de la EPA no está completa. La agencia debe estar preparada para responder a la nueva información y tiene poder para enmendar o revocar las regulaciones existentes siempre que sea necesario. Es posible que recuerdes la preocupación que hubo sobre si el maíz Bt era tóxico para una es-



Figura 12.5 Dudas sobre la contaminación de la mariposa monarca Se pensaba que el maíz Bt era tóxico para una especie no objetivo, la mariposa monarca. Sin embargo, los estudios han demostrado que el maíz Bt plantado en la zona no presentaba ningún riesgo apreciable para las mariposas.

pecie no objetivo, la mariposa monarca (Capítulo 6). Tan pronto como surgieron las sospechas, la agencia actuó con rapidez para suspender la producción comercial de la planta. Cualquiera que haya presenciado el espectáculo de tres ramas vencidas por colonias migrantes de mariposas monarcas o las haya visto revoloteando en las praderas de la alta montaña puede apreciar la idoneidad de la investigación de la EPA sobre la amenaza en potencia. Resulta que los estudios demostraron que el maíz Bt no presentaba ningún riesgo apreciable para las mariposas (como se muestra en la Figura 12.5). Por consiguiente, se permitió continuar produciendo el maíz. Este ejemplo demuestra una importante característica del marco regulador democrático de Estados Unidos: responde a las preocupaciones emergentes de la opinión pública y actúa con precaución. Sin embargo, quizás sea más importante señalar que los organismos reguladores dependen de la calidad de las pruebas científicas para llegar a sus conclusiones. El público está protegido de forma similar por normativa relativa a la puesta en el mercado de alimentos y fármacos.

12.4 La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA)

La FDA se encarga de asegurarse de que los alimentos que comemos y las medicinas que usamos son seguros y eficaces. Dado que los alimentos y los fármacos son sectores calientes del desarrollo biotecnológico, la FDA está ocupada controlando nuevos desarrollos en la industria. El aspecto fundamental reside en que los productos biotecnológicos deben ser tan seguros como sus homólogos convencionales (véase www.fda.gov/cder/handbook/develop.htm, un buscador de centros reguladores de la FDA y sus responsabilidades).

Alimentos y aditivos alimentarios

Cuando se está desarrollando un nuevo producto alimentario o aditivo, la FDA sirve de consultora para los creadores de biotecnología (empresas, investigadores universitarios, etc.) y les aconseja sobre las pruebas que deben realizar. Los estudios normalmente se centran en saber si el nuevo producto tiene algún efecto inesperado e indeseable. Además, se evalúa la proteína para ver si es sustancialmente igual que las proteínas naturales de los alimentos. Asimismo, dado que muchos alimentos comunes –entre los que se incluye la leche, el marisco, los cacahuetes y los huevos– son conocidos por contener sustancias causantes de alergias, cualquier proteína derivada de dichas fuentes se debe considerar como un alérgeno en potencia y etiquetar convenientemente. Ten presente que las compañías no necesitan consultar a la FDA cuando desarrollen productos alimentarios biotecnológicos. Sin embargo, la mayoría de las compañías estadounidenses se han beneficiado de la pericia de la FDA antes de sacar un producto alimentario al mercado. Si un producto alimentario o aditivo no plantea ninguna amenaza previsible, la FDA puede conceder el estatus de **reconocido generalmente como seguro (GRAS),** por sus siglas en inglés). Un ejemplo de producto con estatus GRAS es la quimosina, producida por ingeniería genética, que se utiliza en el 80 por ciento del queso fabricado en Estados Unidos, como se describió en el Capítulo 4. El tomate Flavr Savr (tratado en el Capítulo 6) es un ejemplo de un producto alimentario que obtuvo la aprobación de la FDA como el primer producto de planta comercial que llegó al mercado estadounidense. En ocasiones, un producto que ha sido considerado seguro por la FDA aún tendrá que pasar por momentos difíciles en el mercado. Un ejemplo es la utilización de la somatotropina bobina (BST, por sus siglas en inglés), también conocida como la hormona de crecimiento bobino (BGH, por sus siglas en inglés). Esta sustancia puede aumentar la productividad de la leche en las vacas lecheras. Aunque se produce naturalmente en los animales, muchos consumidores están preocupados de que la hormona aparezca en la leche. Aunque es posible que se trate el 30 por ciento de las vacas lecheras con BST, continúa el debate sobre si habrá efectos negativos en el ganado o en los humanos que consuman la leche que producen. Aún no se han desvelado datos que sugieran que la BST presente ningún peligro, tras un estudio de ocho años realizado por la FDA (véase el informe en la lista de referencia). Sin embargo, si este u otro producto alguna vez resulta inseguro, la FDA tiene la responsabilidad y la potestad de retirarlo del mercado.

El proceso de aprobación de fármacos

Además de regular los alimentos y los aditivos alimentarios, la FDA se encarga de regular los nuevos productos farmacéuticos. Los fármacos biotecnológicos deben cumplir exactamente los mismos estándares que cualquier otro fármaco nuevo. Imagina por un momento que un nuevo tratamiento biotecnológico para la fibrosis quística ha tenido resultados prometedores durante los ensayos con animales. El siguiente paso consiste en ponerse en contacto con la FDA y rellenar un **formulario de investigación con fármacos nuevos** (IND, por sus siglas en

inglés) con el **Centro para la Evaluación y la Investigación de Fármacos.** Antes de aprobar la sustancia para continuar con las pruebas en humanos, la FDA considera el resultado de los experimentos anteriores, la naturaleza de la propia sustancia y los planes de pruebas adicionales. Para proporcionar un estudio regulador efectivo de los productos biológicos, el Centro para la Investigación y Evaluación de Productos Biológicos realiza programas activos de investigación relacionados con la misión. Esta investigación expande en gran medida el conocimiento de los procedimientos biológicos fundamentales y proporciona una base científica consistente para el estudio regulador (véase http://www.fda.gov/cber/research.htm).

Buenas prácticas de laboratorio (GLP), clínicas (GCP) y de fabricación (GMP)

En 1975 la inspección de la FDA a unos pocos laboratorios de pruebas farmacéuticas reveló experimentos realizados con poco cuidado y mal concebidos, el mantenimiento de registro inexacto, unas instalaciones para animales mal conservadas y otros muchos problemas. Estas deficiencias llevaron a la FDA a crear la normativa de **buenas prácticas de laboratorio (GLP)** y **buenas prácticas de fabricación (GMP)** para regular los estudios animales de productos farmacéuticos. Las GLP necesitan que los laboratorios de pruebas y los fabricantes sigan protocolos escritos (procedimientos de operación estándar, o SOP, por sus siglas en inglés), dispongan de instalaciones adecuadas, proporcionen un correcto cuidado a los animales, graben datos adecuadamente y realicen pruebas de toxicidad válidas. Un conjunto similar de estándares, las **buenas prácticas clínicas (GCP),** protegen los derechos y la seguridad de los humanos participantes en la investigación y garantizan la calidad científica de los experimentos clínicos.

El desarrollo de nuevos productos para uso terapéutico a partir de células y tejidos, el aislamiento y la identificación de genes y la introducción de genes en las células y tejidos humanos, microbios, plantas y animales son todo biotecnologías actuales y en expansión. Sin embargo, los trabajadores de laboratorio que tratan con vectores génicos de DNA recombinante y los organismos biológicos que contienen DNA recombinante, bacterias y hongos corren el riesgo de infectarse como consecuencia de estas prácticas. Las compañías biotecnológicas son conscientes de la responsabilidad potencial y las implicaciones financieras relacionadas con la infección de los empleados y han hecho de la implementación de las prácticas bioseguras apropiadas una de sus principales prioridades, como se muestra en la Figura 12.6.

Comprobación de las fases de los fármacos

Si la FDA considera que el nuevo fármaco garantiza la continuación de la investigación, no presenta riesgos obvios y se prueba mediante los métodos científicos apropiados, el fármaco obtendrá el estatus IND. El siguiente paso es la comprobación de las fases, que es diferente (más estricta) para los fármacos que para los alimentos. En primer lugar, durante la fase I (seguridad), entre 20 y 80 voluntarios sanos toman la medicina para ver si existe algún efecto secundario inesperado y para fijar los niveles de dosis. La fase II (eficacia) comienza con la prueba del nuevo tratamiento en entre 100 y 300 pacientes que tienen la enfermedad que el fármaco debe tratar. Si no se notan efectos secundarios perjudiciales y el fármaco parece tener algunos efectos positivos, está listo para pasar a las pruebas de la fase III (comparación de beneficios respecto de otros fármacos actuales). En esta fase participan entre 1.000 y 3.000 pacientes en pruebas con doble ocultación (para impedir que el sesgo potencial afecte los resultados, ni el paciente ni el clínico saben si se está administrando el fármaco o el placebo) y tiene una duración de tres años y medio. Normalmente, un fármaco se puede comercializar sólo una vez que se han establecido sus propiedades beneficiosas y su seguridad a largo plazo en los estudios de fase III. La mayoría de los fármacos no llegan tan lejos. Sólo el 20 por ciento de los fármacos que pasan por la fase I llegan hasta la fase III y la aprobación de la FDA como **NDA (autorización de nuevo fármaco).** Incluso después de que un nuevo fármaco se introduzca en el mercado, la FDA continúa controlándolo de forma indefinida. No se puede comercializar ningún fármaco terapéutico en Estados Unidos hasta que la FDA emita un NDA. El número de nuevos fármacos aprobados por la FDA se ha reducido a la mitad desde 1996, con sólo 20 fármacos aprobados en 2005. Las prue-



Figura 12.6 Un técnico de laboratorio utiliza una micropipeta según las condiciones de bioseguridad de nivel 1 Existen tres niveles de protección contra los peligros biológicos: una cámara de clase 1 que protege al operario del material frente al aire generado en la superficie de trabajo, donde el aire fluye sobre la superficie de trabajo y se filtra antes de pasar de nuevo a la habitación. Una cámara de clase IIB que pasa aire filtrado (HEPA) con gran eficacia para partículas a través de la superficie de trabajo, vuelve a filtrar el aire antes de devolverlo a la habitación y es apto para cultivos de tejidos y bacterias. Una cámara de clase III que aísla el material completamente en una zona hermética a los gases y sólo se requiere cuando se trabaja con los agentes más peligrosos.

bas de fase III suponen el 70 por ciento de los costes de desarrollo clínico, aunque el 40 por ciento de los compuestos se tropieza con este último obstáculo, debido principalmente a la incapacidad de demostrar la superioridad sobre el placebo (véase la Figura 12.7). De forma similar a un NDA, una compañía biotecnológica hará una **Solicitud de licencia biológica (BLA)** si busca la aprobación de un producto derivado biológicamente como una terapia viral, un compuesto sanguíneo, una vacuna o una proteína derivada de animales. La FDA revisa la información que figura en una etiqueta profesional del fármaco (información sobre cómo utilizar el fármaco) e inspecciona las instalaciones donde se va a fabricar el fármaco, dentro del proceso de aprobación.

Debe señalarse una importante excepción a este procedimiento de prueba. La FDA no permite la aprobación de fármacos y bacterias que pretendan contrarrestar el terrorismo biológico, químico o nuclear sin probar primero su seguridad y valía en las pruebas de las fases II y III. Esto también es cierto para los fármacos designados como «fármacos huérfanos», tal como los llama la Oficina de desarrollo de productos huérfanos de la FDA (OOPD, por sus siglas en inglés): fármacos con un pequeño número de beneficiarios, pero con unas grandes propiedades beneficiosas como la globulina inmune al botulismo (BIG), un anticuerpo para la intoxicación de botulismo. Por supuesto, no resultaría ético exponer a seres humanos de forma deliberada a la viruela o al gas nervioso para comprobar la validez de los tratamientos. La OOPD gestiona las principales provisiones de la Ley de fármacos huérfanos (ODA, por sus siglas en inglés), la cual proporciona incentivos para que los patrocinadores desarrollen productos para enfermedades raras. La ODA ha tenido mucho éxito (se han introducido en el mercado más de 200 fármacos y productos biológicos para enfermedades raras desde 1983). Por el contrario, en la década anterior a 1983 se introdujeron menos de 10 productos en el mercado. Los nuevos fármacos de este tipo se seguirán sometiendo a las pruebas de la fase I porque la parte del proceso requiere la exposición al fármaco solo y no a la sustancia peligrosa que debería contrarrestar (de esta forma la FDA puede determinar que el propio fármaco no provocará efectos secundarios no deseados). Por ejemplo, la FDA emitió la aprobación del nuevo fármaco Cipro, el antibiótico utilizado para tratar el ántrax. Es una prueba más de la capacidad de la burocracia para responder a las nuevas situaciones.

Aprobación más rápida de fármacos frente a seguridad pública

Las compañías biotecnológicas gastan cerca de 1.200 millones de dólares en introducir un producto biológico en el mercado y tardan unos 15 años en recibir la aprobación de la FDA para la comercialización de éste. Debido a los problemas de índole financiera, a las compañías biotecnológicas les gustaría acelerar este proceso. No obstante, la FDA preferiría mantener el proceso en su ritmo actual para garantizar las pruebas adecuadas. Es probable que se necesite un acuerdo para facilitar productos necesarios para el público (por ejemplo, la terapia génica para enfermedades que finalmente podrían matar a los pacientes) y la seguridad de que éste resulte aceptable para las agencias reguladoras como la FDA.

Por ejemplo, en la actualidad hay cinco suministradores de la hormona de crecimiento humano. Se requirió que cada compañía obtuviera una aprobación individual de la FDA, haciendo cada una sus propios estudios con animales (fases I y II) y sus estudios clínicos (fase III). La Convención farmacopea estadounidense (USP, por sus siglas en inglés) ha propuesto un método alternativo para estandarizar la medición de la actividad *in vitro* (en cristal o cultivo de laboratorio). Este cambio significaría que cada una de estas compañías podría acelerar las pruebas y pasar a las pruebas de seguridad humana un poco antes. Desde el punto de vista de las compañías farmacéuticas, este cambio de la metodología aceleraría el re-

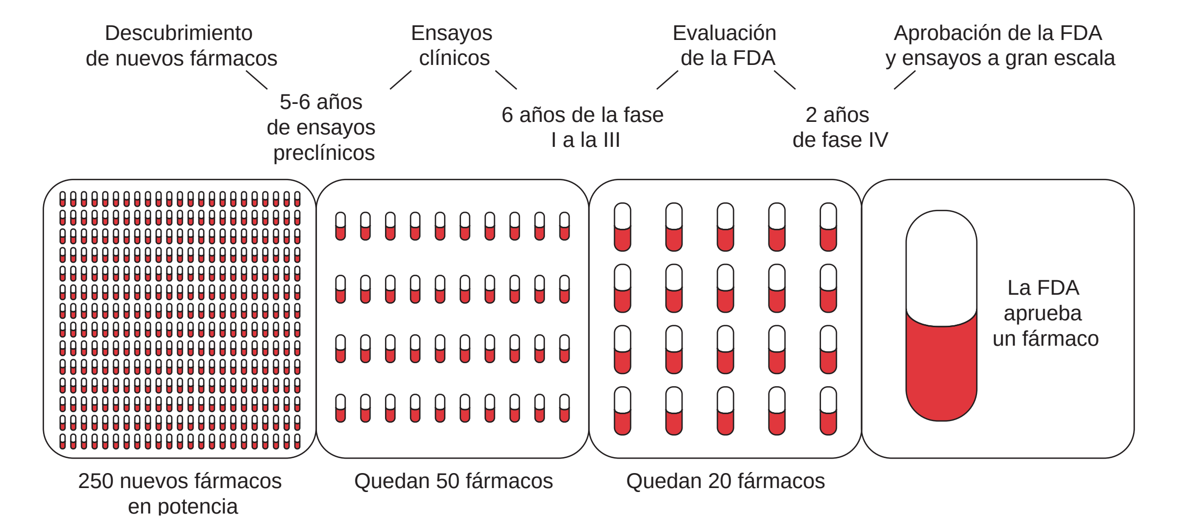


Figura 12.7 El proceso de los fármacos Solo el 20 por ciento de los fármacos que entran en la fase I llegan a la fase III, y el 40 por ciento de éstos fracasan debido a la incapacidad de mostrar su superioridad sobre el placebo.

traso en el envío de productos para su aprobación mediante la utilización de métodos estandarizados sin afectar a la seguridad. Con el tiempo veremos si este cambio se aprueba o no. El posible requerimiento de etiquetar todos los alimentos producidos mediante biotecnología es otro asunto que se decidirá con el tiempo.

12.5 Legislación y regulación: el papel actual del gobierno estadounidense

La regulación de la biotecnología, al igual que otras industrias, es un asunto de política, así como de la ciencia. Las agencias reguladoras son organizaciones gubernamentales y existen para hacer cumplir las leyes. De forma ideal, esas leyes se basan en la buena práctica científica, pero también reflejan valores filosóficos. No es poco común que los sistemas de valores choquen, y cuando esto ocurre, puede necesitarse un largo proceso de negociaciones y acuerdos para alcanzar un consenso.

No resulta sorprendente que la biotecnología haya dado lugar a la controversia. Ten en cuenta las implicaciones de utilizar células madre (ES) embrionarias humanas. Las últimas investigaciones han resultado muy prometedoras y algunos investigadores creen que estamos a punto de descubrir curas para enfermedades mortales como el Parkinson, el cáncer o la diabetes. Sin embargo, las promesas de los científicos sólo constituyen una parte de la controversia. Muchos estadounidenses consideran que el comercio con células madre es repugnante desde un punto de vista ético. Desde su perspectiva, la práctica resulta tan inhumana como cultivar un órgano de un donante involuntario. Se ha promovido legislación a favor de una prohibición total o una moratoria de dos años en la investigación. A medida que el debate progrese, las dos partes harán lo que esté en sus manos para darle forma a las políticas que regularán este aspecto de la investigación biotécnica en el futuro (véase el Capítulo 13 para obtener más información sobre las cuestiones éticas que rodean a las células madre ES).



TÚ DECIDES

¿Debería prohibirse la clonación reproductiva de los humanos?

La mayoría del trabajo con células madre descrito en el Capítulo 11 ha sido realizado por compañías privadas o instituciones académicas con financiación de organizaciones privadas. Esto se ha debido a la prohibición aprobada en 1996 de utilizar fondos federales para investigaciones que podrían destruir embriones. Uno de los retos a los que se enfrentó el presidente Bush cuando llegó al poder en 2001 fue tener que decidir si levantaba totalmente la prohibición de utilizar fondos federales para la investigación con células madre, si modificaba la posición del gobierno respecto a la financiación de estos trabajos o si imponía nuevas restricciones.

Aunque los científicos están preocupados por el tratamiento ético de los embriones humanos, muchos investigadores con células madre de Estados Unidos también se mostraron preocupados de que la prohibición de utilizar fondos federales para la investigación con embriones humanos pudiera provocar que Estados Unidos se pusiera por detrás de otros países involucrados de forma activa en la investigación con células madre embrionarias. Algunos temían que se produjera una «fuga de cerebros» por la cual muchos de los mejores investigadores del país se fueran a trabajar a otros países. Por otro lado se encontraban los políticos y los grupos de opinión pública preocupados por los valores de la vida humana y la ética de utilizar células madre derivadas de embriones.

Durante los primeros meses en el cargo, el presidente Bush recopiló información de diferentes facciones científicas, públicas, políticas y religiosas antes de decidir si Estados Unidos financiaría la investigación con células ES. Algunos opositores a la investigación con embriones expresaron su preocupación por que el uso de células ES pudiera llevar a un aumento de la demanda de embriones, dando lugar a problemas como un aumento de los abortos. Algunos críticos afirman que un embrión tiene el estatus moral de una persona y que cualquier acción que destruya a un embrión representa una profanación de la vida humana.

En un discurso televisado el 9 de agosto de 2001, el presidente Bush se dirigió a la nación estadounidense para discutir la investigación con células madre en lo que el presidente describió como «Un asunto complejo y difícil, uno de los asuntos más profundos de nuestro tiempo». En este discurso el presidente Bush presentó las posiciones de su gobierno sobre el uso de fondos federales para fomentar la investigación científica con células madre derivadas de embriones humanos. Tras hablar del potencial de las células madre para tratar una serie de enfermedades, los aspectos éticos del comienzo de la vida y enfatizar su oposición a la clonación humana, el presidente Bush declaró que los fondos federales se podrían usar para investigar con entre 60 y 70 líneas de investigación con células madre existentes producidas por la investigación privada, sobre la base de que fueron creadas a partir de embriones que ya se habían destruido. No obstante, los fondos federales no se podrían utilizar para *cultivar* embriones para aislar células madre.

Asimismo, la decisión del presidente Bush puso 200 millones de dólares de los fondos federales a disposición de la investigación con células madre, aunque ya se está financiando una mayoría del trabajo pionero a través de asociaciones con la industria. Por ejemplo, James Thomson,

TÚ DECIDES

el investigador de la universidad de Wisconsin-Madison que aisló las primeras células ES humanas, recibió financiación de Geron Corporation, la mayor compañía de biotecnología estadounidense involucrada en la investigación con células ES humanas.

Dado que las compañías privadas han desarrollado o financiado la mayoría del trabajo con células madre de Estados Unidos, algunas de estas compañías han protegido con celo sus resultados por motivos de propiedad para obtener derechos de comercialización exclusivos de las líneas celulares y las tecnologías que han desarrollado. Aunque se reconoce generalmente que se necesita una regulación federal de la investigación con células madre, los investigadores universitarios y las compañías no quieren perder su capacidad de competición para obtener derechos de patentar descubrimientos novedosos y potenciales aplicaciones de las células madre.

Muchos de los investigadores con células madre líderes de Estados Unidos consideraron el anuncio de Bush como una decisión agridulce por varios motivos. Por ejemplo, es posible que las líneas celulares cultivadas derivadas de células ES no muestren todo el potencial de diferenciarse que tienen las células ES recientemente aisladas. Se sabe que muchas células cultivadas acumulan mutaciones a lo largo del tiempo y se comportan de forma diferente, de modo que es posible que no reflejen las capacidades auténticas de las células ES aisladas recientemente. Las líneas celulares existentes pueden tener una capacidad limitada de desarrollarse en todas las células del organismo. Por último, algunas compañías podrían mostrarse reacias a compartir de forma libre estas líneas celulares limitadas que ellos crearon usando sus propios fondos. El tiempo dirá la forma en que la decisión del presidente Bush afectará a los investigadores con células madre estadounidenses que dependen de los fondos federales y están limitados a la investigación con las líneas celulares existentes. Entretanto, las compañías privadas y los investigadores financiados de forma privada continúan realizando investigación con células ES, independientemente de las restricciones federales de usar embriones para derivar células ES.

En 1979, tras el primer nacimiento con éxito de un niño creado por fertilización *in vitro* (IVF, por sus siglas en inglés), un consejo de asesoramiento ético estadounidense recomendó que se aceptaran los fondos federales de la investigación con embriones humanos para la IVF. Realmente no se tomaron medidas respecto al informe de este consejo hasta 1994, cuando un consejo de asesoramiento del NIH aprobó la utilización de embriones no utilizados a partir de la investigación de IVF. El presidente Clinton rechazó esta recomendación y por consiguiente el Congreso bloqueó los fondos federales de toda la investigación con embriones humanos.

Después de que en 1998 los investigadores de la universidad de Wisconsin cultivaran células ES humanas con fondos privados, en 1999 el Comité Consultivo Nacional de Bioética estadounidense nombrado por el presidente Clinton recomendó modificar la prohibición del Congreso para financiar la investigación con embriones, de cara a apoyar los fondos federales para aislar células ES de los embriones inutilizados y recomendó una moratoria en la clonación humana. Bajo la dirección de Harold Varmus, el NIH también propuso una acción similar para la utilización de células madre ya producidas sin apoyo federal. Estas sugerencias languidecieron hasta agosto de 2001, cuando el presidente Bush modificó la prohibición sobre el uso de fondos federales para investigar con células madre derivadas de los embriones que permiten que los científicos financiados con dinero público trabajen solo con cultivos de células madre o líneas celulares ya establecidas.

El 31 de julio de 2001 el Congreso de Estados Unidos aprobó la ley de prohibición de la clonación humana de 2001 con 265 votos a favor y 162 en contra para prohibir el apoyo federal para las investigaciones relacionadas con la clonación humana (tanto la clonación terapéutica para diferenciar células ES como la clonación reproductiva). En la actualidad se están tramitando varios proyectos de ley en el Senado estadounidense para oponerse a cualquier tipo de clonación. En Estados Unidos no hay leyes que impidan que los investigadores financiados con fondos privados creen células madre a partir de embriones, y la mayoría de los estados no tienen leyes que impidan que los grupos privados puedan crear embriones mediante IVF o mediante transferencia nuclear de células somáticas.

¿Qué piensa el resto del mundo acerca de las células madre y la clonación? La producción de embriones humanos de fase temprana con cualquier objetivo distinto de la implantación en el útero de la mujer que produjo el óvulo es ilegal en Alemania. El Reino Unido tiene las leyes más tolerantes de Europa en relación con las células madre: permite la investigación con células madre embrionarias derivadas de embriones abortados y sobrantes creados para la investigación mediante IVF. Asimismo, la clonación terapéutica es legal en Gran Bretaña. En 1990 el Reino Unido promulgó la ley de fertilización y embriología humana. Aprobada tanto por la Cámara de los Comunes como por la Cámara de los Lores, la ley permite la investigación con embriones y permite a los científicos crear embriones a efectos de investigación. También se permite la investigación con células madre embrionarias para desarrollar terapias para enfermedades humanas. Sin embargo, la Cámara de los Comunes del Reino Unido pronto debatirá un proyecto de ley que pretende prohibir la implantación de un embrión clonado (clonación reproductiva). Se están considerando leyes similares en Holanda, Israel e Italia. Japón, Canadá, Francia y Australia permiten a los científicos derivar células ES a partir de embriones sobrantes de la IVF, pero estos países han prohibido la clonación terapéutica y reproductiva.

Ahora que sabes más sobre el asunto, ¿se debería prohibir la clonación reproductiva de los humanos? Tú decides.

El etiquetado de productos biotecnológicos

Otro asunto controvertido es el etiquetado de alimentos que contienen organismos modificados genéticamente (GMO, por sus siglas en inglés). Desde el punto de vista de la FDA y la actual administración estadounidense, las etiquetas alimentarias deben incluir información acerca de los ingredientes y cualquier reclamación o aclaración del fabricante. Asimismo, la FDA requiere un etiquetado especial de los alimentos que presentan aspectos de seguridad o de utilización conocidos. Si un producto de alimentación biotecnológico incluyera una proteína que no se encuentra normalmente en el alimento y es un alérgeno conocido, la FDA requeriría un etiquetado especial que alerte del riesgo a los consumidores alérgicos. Asimismo, este estándar se aplica a los productos alimentarios tradicionales. Muchas golosinas de chocolate contienen una advertencia que avisa de que pueden contener trazas de cacahuete. Sin embargo, dado que los alimentos biotecnológicos no son intrínsecamente más o menos peligrosos que sus equivalentes tradicionales, la FDA no requiere una etiqueta que indique el método de producción (sin embargo, la EU requiere etiquetas cuando se ha producido una modificación genética si el producto se debe vender en Europa).

Algunos grupos de consumidores están buscando un cambio en las leyes de etiquetado que requiera información acerca del uso de la ingeniería genética en la producción alimentaria. Argumentan que esta revelación de información resulta fundamental para su derecho de conocer y tomar decisiones con criterio en función de sus valores y creencias. Un interesante ejemplo de este debate del mundo real se centra en la utilización de la BST para aumentar la producción de leche, como se discutió con anterioridad. A lo largo de la pasada década, una serie de estudios detallados dieron como resultado que la leche producida mediante BST no presenta riesgos para la salud. Por este motivo, la FDA continúa manteniendo la posición de que no se requieran etiquetas. Además, cuando los productores de lácteos comenzaron a etiquetar sus productos como «sin BST», la FDA intervino. La agencia afirmó que dichas etiquetas en verdad resultan confusas porque la producción de leche en las vacas lecheras depende de la BST que se produce de forma natural. Esto ha estimulado las ventas de leche etiquetada «procedente de vacas no tratadas con BST». Como se indica en el Capítulo 6, algunas personas temen la introducción de proteínas en alimentos que estimulen alergias o que añadan sustancias resistentes a los antibióticos a nuestros alimentos. Las agencias reguladoras han estado durante décadas salvaguardando la población frente a estos potenciales peligros.

Estos son dos ejemplos representativos de las muchas controversias que surgen con el crecimiento de la industria biotecnológica. Resulta seguro decir que el futuro probablemente traerá muchos más debates de este estilo a medida que los políticos y la sociedad se ajusten al papel de la biotecnología en nuestro mundo. Por este motivo, una de las responsabilidades primarias de todas las agencias reguladoras consiste en proporcionar una vía para conocer la opinión de los consumidores. Este requerimiento de la regulación representa un importante aspecto de la democracia en acción y más de una agencia lo comparte, como puedes ver en la Tabla 12.2. Puedes aprender más acerca del papel de los comentarios de la opinión pública en la política de modelación, o incluso participar, cuando visites las páginas web de las agencias reguladoras en la página web adjunta.

Tabla 12.2 EJEMPLOS DE RESPONSABILIDADES COMPARTIDAS POR LAS AGENCIAS REGULADORAS FEDERALES

Nuevo rasgo/organismo	Examen regulador realizado por	Examinado para
Resistencia viral en cultivo alimentario	USDA	Seguro para cultivar
	EPA	Seguro para el medioambiente
	FDA	Seguro para comer
Tolerancia a herbicidas en cultivo alimentario	USDA	Seguro para cultivar
	EPA	Nuevo uso de herbicida acompañante
	FDA	Seguro para comer
Tolerancia a herbicidas en cultivo ornamental	USDA	Seguro para cultivar
	EPA	Nuevo uso de herbicida acompañante
Contenido aceitoso modificado en cultivo alimentario	USDA	Seguro para cultivar
	FDA	Seguro para comer
Color de flor modificado en cultivo ornamental	USDA	Seguro para cultivar
Bacteria de tierra modificada que degrada contaminantes	EPA	Seguro para el medioambiente

Fuente: www.fda.gov.

El fracaso de Fluvirin

Se perdieron unos 48 millones de dosis potenciales de la vacuna contra la gripe por causa de la compañía Chiron de Emeryville, California, cuando los reguladores británicos de la Agencia Reguladora de Productos del Reino Unido (MHRA, por sus siglas en inglés) encontraron una contaminación bacteriana en algunos lotes de la vacuna. Las

compañías que operan en el Reino Unido deben seguir las regulaciones GMP que son tan estrictas o más que las de Estados Unidos. Después de que la MHRA cerrara la planta en 2004 (desde entonces se ha vuelto a abrir tras corregir los problemas), la FDA realizó su propia investigación y anotó en una lista 20 infracciones en una carta de advertencia que envió a Chiron en diciembre de 2004. La compañía encontró la bacteria *Serratia* en nueve de sus lotes de vacunas contra la gripe. Dado que no pudo localizar el origen del problema, se vio obligada a destruir 91 lotes de vacunas. Se requieren procedimientos de operación estándar para la trazabilidad de problemas como éstos, según el artículo 211 de la actual legislación federal estadounidense.

¿Cómo pueden otras compañías evitar fallos en GMP como el incidente de Chiron? Los reguladores de la FDA recomiendan que las compañías evalúen todos los aspectos de la producción, entre los que se incluye el personal, los procedimientos, el equipamiento, los materiales, el mantenimiento de registros, las auditorías y la formación. Las actuales buenas prácticas de fabricación precisan de una actualización continua y se solicita a las compañías que proporcionen esta formación a sus empleados.

TÚ DECIDES

¿Veremos el desarrollo de fármacos sin patentes?

Las patentes de genes llegaron para permanecer, pero aún quedan muchas preguntas por resolver. Por ejemplo, ¿qué ocurre cuando una sola compañía «posee» un producto biotecnológico con aplicaciones que podrían salvar vidas? Como muestra la Tabla 12.4, muchas compañías han solicitado patentes para terapias génicas contra el cáncer.

La historia muestra que la práctica médica se puede ver afectada por las leyes de las patentes. Por ejemplo, Myriad Genetics tiene patentes exclusivas de *BRCA1* y *BRCA2*, los genes que determinan principalmente el riesgo de una mujer de padecer cáncer de mama. Recientemente la compañía empezó a exigir tasas a cualquier laboratorio que pueda realizar pruebas sanguíneas para los genes, lo que amenazó con hacer que la prueba no estuviera al alcance de muchas mujeres. En enero de 2001 el Instituto Nacional de Cáncer estadounidense (NCI, por sus siglas en inglés) llegó a un acuerdo con Myriad Genetics que permite a todos los laboratorios del NCI y el NIH utilizar la prueba con un descuento. No obstante, otros laboratorios ya no pueden permitirse más la prueba.

¿Debería permitirse que una compañía poseyera los derechos de exámenes o tratamientos médicos importantes? ¿Debería intervenir el gobierno para asegurarse de que estos procedimientos estén disponibles para todo el mundo a un precio asequible, o esta medida pisotearía los derechos del propietario de la patente? Te recomendamos que evalúes los estudios de caso que se encuentran en la página Web de la Oficina de Patentes y Marcas de Estados Unidos. Tú decides.

En un intento de obtener resultados más rápidos con un número más reducido de individuos en ensayos clínicos con fármacos, la FDA está animando a las compañías farmacéuticas a que diseñen ensayos clínicos con dosis e inscripciones más flexibles. No todo el mundo está de acuerdo en que esto sea una buena idea.

En un ensayo clínico típico, la dosis del fármaco y el número de pacientes en los grupos de control y experimentales están predeterminados y no se pueden modificar. Por el contrario, los ensayos adaptativos permiten cambios en la dosis del fármaco, en el tamaño de los grupos de pacientes y otros cambios en respuesta a los datos de entrada. En otras palabras, los parámetros se cambian sobre la marcha a medida que se reciben nuevos resultados. Teniendo en cuenta que los ensayos de las fases II y III pueden prolongarse fácilmente durante cinco años o más, todo el mundo apoya los cambios que posiblemente aceleren los resultados.

Bayer Healthcare utilizó un enfoque adaptativo en sus ensayos de fase II para un nuevo fármaco para el cáncer. No sabían antes de tiempo que cáncer respondería mejor al nuevo fármaco, así que inscribieron a un conjunto de pacientes con distintos tipos de cáncer en estado avanzado. En poco tiempo supieron que el fármaco respondía mejor al cáncer de riñón, de forma que «adaptaron» sus ensayos para inscribir y hacer pruebas sólo de pacientes que tenían cáncer de riñón avanzado.

La principal preocupación reside en que la comisión que debe decidir sobre las respuestas adaptativas sea completamente objetiva. Es bastante posible que los fármacos en pruebas fracasen más rápidamente y les cueste más a las empresas. Asimismo, los resultados se podrían manipular con las «adaptaciones» correctas. La FDA está publicando directrices para evaluar los múltiples resultados posibles y métodos para enriquecer ensayos con pacientes a los que probablemente les beneficie. ¿Proporcionará resultados más rápidos el diseño adaptativo? ¿Subirá o bajará el coste de los fármacos? ¿Quién se verá más beneficiado, el paciente o la compañía farmacéutica?

12.6 Introducción a las patentes

Las patentes están reguladas por una agencia gubernamental, pero los productos biotecnológicos no suelen ser el tipo de ideas que pensamos que las patentes protegen. Una patente le proporciona derechos exclusivos a un inventor o investigador respecto de un producto y prohíbe que otros fabriquen, utilicen o vendan el producto durante un determinado número de años. Cuando se concibieron por primera vez las patentes, nadie podría haber pensado en patentar el DNA o las proteínas. Se esperaba que los inventores diseñaran mejores trampas para ratones, no mejores ratones. La **Oficina de Patentes y Marcas de Estados Unidos (USPTO)** por sus siglas en inglés) concedió la primera patente para una bacteria con una secuencia genética única (organismo de ingeniería genética) en 1980. Desde ese momento, la oficina ha con-

cedido más de 2.000 patentes para genes de plantas, animales y humanos. También se han concedido patentes para animales y plantas transgénicos, anticuerpos monoclonales e hibridomas, antígenos aislados y composiciones de vacunas y métodos para clonar o producir proteínas.

Estas patentes se han traducido en grandes beneficios para las compañías biotecnológicas, si bien también han provocado bastante controversia. Mucha gente cree que los genes (especialmente los genes humanos) no se deberían tratar como bombillas o trampas para ratones. Según su manera de pensar, no debería ser posible patentar la vida o componentes críticos de la vida como el DNA y las proteínas.

Para entender completamente este asunto, necesitamos conocer las funciones de las patentes. Para obtener una patente, un descubrimiento debe cumplir los siguientes tres requisitos básicos: debe ser novedoso, no debe resultar obvio y tiene que tener alguna utilidad. (El concepto de «utilidad» se discute con más detalle más adelante en este capítulo.) De forma tradicional, las patentes se han concedido para invenciones, pero muchos productos naturales cumplen claramente los tres requisitos, como se muestra en la Tabla 12.3. Por ejemplo, una secuencia de DNA recién descubierta puede ser novedosa, no resultar obvia y muy útil en potencia, y la USPTO normalmente no duda en conceder patentes a secuencias de proteínas de función conocida.

En resumen, el proceso de patentar genes encaja totalmente con la letra y el espíritu de la ley de patentes, si bien aún quedan muchas preocupaciones e incertidumbres. El reto para el gobierno es encontrar una forma de proteger los derechos individuales de los investigadores mientras se promueve la ciencia como un todo, como es el caso de mejores fármacos contra el cáncer (véase la Tabla 12.4).

Tabla 12.3 PATENTES, MARCAS Y SECRETOS COMERCIALES

Las **patentes** proporcionan derechos para un período de hasta 20 años para invenciones de estas amplias categorías:

Las **patentes de utilidad** protegen los procesos, máquinas, artículos de manufactura y composiciones útiles. Algunos ejemplos son la fibra óptica, el *hardware* de los ordenadores y los medicamentos.

Las **patentes de diseño** protegen el uso no autorizado de diseños nuevos, originales y ornamentales para artículos de manufactura. La apariencia de unas zapatillas de deporte, un casco de bicicleta y los personajes de *Star Wars* están todos protegidos por las patentes de diseño.

Las **patentes de plantas** son la forma en que protegemos variedades de plantas inventadas o descubiertas reproducidas de forma asexual. Las rosas del té híbridas, el maíz Silver Queen y los tomates Better Boy son tipos de patentes de plantas.

Las **marcas** protegen palabras, nombres, símbolos, sonidos o colores que distinguen los bienes y los servicios. Las marcas, a diferencia de las patentes, se pueden renovar para siempre mientras se utilicen en los negocios. El rugido de león de la MGM, el rosa de la pantera rosa de Owens Corning y la forma de la botella de Coca-Cola son marcas familiares.

Los ***Copyrights*** protegen los trabajos de autoría, tales como escritos, música y obras de arte expresadas de forma tangible. La biblioteca del Congreso estadounidense registra copyrights que duran toda la vida del autor más 50 años. *Lo que el viento se llevó* (el libro y la película), los discos de los Beatles y los videojuegos tienen todos *copyright*.

Los **secretos comerciale**s son información que las compañías mantienen secreta para tener una ventaja sobre sus competidores. La fórmula de la Coca-Cola es el secreto comercial más famoso.

Fuente: www.uspto.gov/web/offices/ac/ahrpa/opa/museum/1intell.htm.

Tabla 12.4 TERAPIAS GÉNICAS ESTUDIADAS EN ESTE MOMENTO EN PACIENTES DE CÁNCER QUE PUEDEN RECIBIR PATENTES Y APROBACIONES

Método	**Número de ensayos aprobados en Estados Unidos desde 1988 o en espera de aprobación por parte del gobierno federal**
Terapia antisentido (bloquear síntesis de proteínas codificadas por genes dañinos)	4
Quimioprotección (añadir proteínas a las células normales para protegerlas de las quimioterapias)	7
Inmunoterapia (mejorar las defensas inmunes del organismo contra el cáncer)	58
Terapia con genes suicidas o profármaco (hacer que las células cancerígenas sean muy sensibles a los fármacos seleccionados)	21
Genes supresores de tumores (sustituir un gen bloqueador del cáncer perdido o dañado)	6
Genes anticuerpos (interferir en la actividad de las proteínas relacionadas con el cáncer en las células tumorales)	2
Disminución de la expresión de oncogenes (dejar sin efecto genes que favorecen el crecimiento incontrolado y la propagación de las células tumorales)	2

Fuente: Fiattman, G.I. y Kaplan, J. M. (2001). «Patenting Expressed Sequence Tags and Single Nucleotide Polymorphisms», *Nature Biotechnology,* 19: 683.

El valor de las patentes en la industria biotecnológica

Para la industria biotecnológica, las patentes fuertes suponen negocios fuertes. Las patentes son el activo principal por el cual una compañía biotecnológica de éxito se evaluará durante todas las fases de su desarrollo. Supón que un equipo de científicos descubre una vacuna contra un virus mortal. Sin una patente, ninguna compañía farmacéutica continuaría con las desalentadoras tareas de realizar costosos ensayos clínicos, obtener la aprobación de la FDA y desarrollar un plan de *marketing* exhaustivo. Sin la protección de la patente, una compañía rival podría comprar el fármaco en la farmacia, duplicarlo y venderlo a precio mucho menor sin gastar un céntimo en investigación.

En Estados Unidos las patentes se hacen cumplir por hasta 20 años desde el momento del archivo. Esto significa que otras compañías pueden comercializar sus propias versiones del producto después de que los desarrolladores originales hayan tenido derechos exclusivos durante dos décadas. Este plan favorece los nuevos descubrimientos y evita los monopolios a largo plazo.

Para obtener una patente estadounidense, una compañía debe presentar una solicitud que describa adecuadamente el producto. Asimismo, la compañía debe desvelar lo que considera la mejor utilización del producto en el momento en que se presenta la solicitud. Los expertos de la USPTO con una formación técnica específica examinan todas las solicitudes de patentes. Las patentes se conceden a la primera empresa que presenta la solicitud. Si dos compañías presentan solicitudes para el mismo descubrimiento más o menos al mismo tiempo, las dos partes podrían tener que verse en los tribunales. En estos casos, una pequeña preparación requiere un largo camino.

Las siguientes directrices protegen un producto candidato a una patente:

1. *Mantén buenos registros.* Cada investigador debería mantener notas detalladas en un cuaderno o un formato electrónico seguro como se especifica en las regulaciones de la FDA. Cada entrada se debe firmar, poner fecha y atestiguar por parte de un individuo que no esté involucrado directamente en la investigación. El cuaderno debe contener todas las ideas conceptuales y datos de soporte. Esta prueba se puede utilizar para servir de soporte a la patente de la compañía o para invalidar patentes rivales.
2. *Haz tus deberes.* Continúa controlando las actividades de los competidores en potencia y otros en el mismo campo a través de las publicaciones comerciales, las solicitudes de patentes publicadas y las patentes emitidas. La página web de la USPTO es una fuente de información de utilidad. Asimismo, puedes comprobar las bases de datos comerciales como Derwent, Medline y Biosis.



P Si ayudaste a tu profesor universitario en un descubrimiento y publicaste tu trabajo, ¿impedirá esto que el descubrimiento se patente?

R Un profesor de química de una universidad solicitó una patente para un nuevo compuesto químico después de que tres de sus estudiantes hubieran publicado sus tesis sobre el nuevo compuesto. La solicitud fue rechazada inicialmente por el examinador de patentes, puesto que no era algo novedoso (véase la sección 12.6), ya que el nuevo compuesto ya se conocía gracias a las tesis publicadas. La decisión fue revocada por el tribunal federal (en la causa de Cronyn) aunque la revelación pública prematura de una invención, de manera oral, escrita, o en forma electrónica un año antes de la solicitud impide que se pueda patentar.

El problema de las revelaciones prematuras reside en que suele resultar muy habitual en el ámbito académico, donde el avance del conocimiento es la meta, más que un objetivo comercial. En este caso, las tesis de los estudiantes no estaban catalogadas ni en la biblioteca principal ni en la de química. No figuraban en los principales catálogos de las bibliotecas ni tenían asignados números de la librería del Congreso. El tribunal federal las consideró de disponibilidad pública, las tesis tenían que estar disponibles para el público. Este es obviamente un caso inusual y las compañías tienen especial cuidado de informar a los investigadores acerca de cómo se pueden perder o poner en peligro con facilidad los derechos de patentes por la revelación pública prematura.

Las patentes para secuencias de DNA

Aunque la gran mayoría de las secuencias de DNA nunca tenga valor médico o agrícola, algunas podrían desempeñar un papel importante a la hora de producir alimentos o combatir enfermedades. Como es natural, las organizaciones que identifican estas secuencias quieren disfrutar de los frutos de sus esfuerzos mediante la obtención de protección, de conformidad con las leyes de patentes. Se ha trazado el mapa de la frontera genómica y los pioneros de hoy en día están vigilando estrechamente lo que consideran su territorio. A continuación presentamos más en detalle los requisitos de una solicitud de patente.

Expresado en términos legales, el contenido patentable comprende cualquier máquina nueva y útil, proceso de fabricación, composición o cualquier mejora nueva y útil. Por tanto, para ser patentable, un producto debe tener alguna utilidad, como comentamos anteriormente. De acuerdo con las directrices, los solicitantes deben declarar una utilidad para la invención que sea específica, sustancial y creíble. Para declarar una **utilidad específica** en el caso de una secuencia de DNA, un investigador debe conocer exactamente qué hace la secuencia de DNA. No resulta suficiente decir que es una sonda o un marcador (véase el Capítulo 3 para recordar cómo funcionan). El investigador debe revelar lo que, precisamente, investiga o marca (por ejemplo, una sonda para un gen de enfermedad humano específico). Una **utili-**

dad sustancial define un uso del mundo real. Un ejemplo sería un fragmento de DNA clonado que codifica una proteína con un uso o función conocido. Para cumplir el requisito de **utilidad creíble,** el investigador debe convencer a la oficina de patentes de que la solicitud está respaldada por argumentos científicos sólidos.

Incluso si una secuencia de genes pasa las tres pruebas, aún se puede denegar una patente si resulta demasiado similar a una patentada con anterioridad. Recuerda del Capítulo 3 que la función de un gen se puede modificar mediante la alteración de un nucleótido. Por este motivo, las patentes en secuencias de genes resultan normalmente muy específicas. Dicho de otro modo, un segmento de DNA debe coincidir exactamente con una secuencia patentada para infringir esa patente. Si una compañía denuncia una infracción de patente en dos secuencias similares, un tribunal debe decidir si las secuencias tienen en esencia la misma función. Esto se conoce como la **doctrina de equivalentes.** Los requisitos para proteger los derechos de propiedad intelectual y la venta de productos con patentes no son los mismos fuera de Estados Unidos y requieren solicitudes diferentes en estos países.

Según diversos estudios, cerca de un 20 por ciento de todos los genes humanos se han patentado, principalmente por compañías de biotecnología privadas. No resulta sorprendente que la mayoría de los genes más patentados sean los implicados en la salud y enfermedad humanas. Casi un 50 por ciento de los genes cancerígenos conocidos se han patentado. En algunos casos los genes como *BRCA1,* uno de los genes relacionados con el cáncer de mama, tienen derechos de patentes concedidos a muchas compañías que dan como resultado disputas sobre los derechos comerciales y la propiedad de dichas secuencias. Algunos genes tienen hasta 20 patentes que cubren dere-

HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Un entorno de trabajo regulador seguro y eficiente

¿Qué puede producir un grupo de científicos bien formados con excelente financiación del gobierno, pocas limitaciones legales y una gran cantidad de plasma de germen? Los científicos chinos tienen la mayor capacidad de producción de plantas biológicas fuera de Norte América. Han mostrado que el apoyo gubernamental es fundamental para desarrollar nuevos productos con rapidez en los países en vías de desarrollo. Por consiguiente, los agricultores chinos están cultivando más superficies de plantas modificadas genéticamente que cualquier otro país en vías de desarrollo y lo están haciendo con el apoyo y el respaldo de su gobierno. Estos cultivos están controlados y regulados por el gobierno chino, de conformidad con las regulaciones desarrolladas dentro del país.

Aunque China ha pasado los últimos 50 años construyendo el sistema de investigación agrícola de mayor éxito del mundo en vías de desarrollo (empleando a más de 70.000 científicos), la investigación en biotecnología moderna vegetal no comenzó hasta mediados de la década de 1980. Como respuesta al aumento del uso de pesticidas y la aparición de una población de gusanos del algodón resistente a los pesticidas a finales de esta década, los científicos chinos comenzaron a investigar con el algodón modificado genéticamente. En 1997 se aprobó el uso comercial del algodón modificado genéticamente, tras unas pérdidas devastadoras en los cultivos. La respuesta de los pobres agricultores chinos a la introducción de algodón Bt eliminó toda duda de que los cultivos modificados genéticamente pueden desempeñar un importante papel en los países en vías de desarrollo. Hacia el año 2000 los agricultores plantaron variedades de plantas Bt en un 20 por ciento de la extensión de cultivo de algodón en China y se redujo una media de 13 rociados (y ahorros de 543 euros por hectárea y por temporada). Aunque la cosecha y el precio del algodón Bt y no Bt eran iguales, los ahorros en costes y la reducción en mano de obra redujeron el coste de producir un kilo en un 28 por ciento.

Un proceso de aprobación simplificado no es la única razón del éxito. Los científicos chinos han identificado más de 50 especies de plantas y más de 120 genes funcionales que los científicos utilizan en la ingeniería genética de plantas. De estas tecnologías genéticas, 353 se realizaron entre 1996 y 2000. La oficina china de la administración en ingeniería genética y seguridad aprobó 251 casos de plantas modificadas genéticamente para realizar ensayos de campo, liberaciones al medioambiente o comercializaciones. De éstas, los reguladores aprobaron 45 solicitudes de plantas modificadas genéticamente para ensayos de campo, 65 para liberación al medioambiente y 31 para comercialización. El arroz transgénico, resistente a tres de las plagas principales de arroz en China (barrenador del arroz, el saltamontes y la plaga bacteriana de las hojas) han pasado al menos dos años de ensayos de liberación al medioambiente.

A diferencia del resto del mundo, donde la mayoría de la investigación con plantas biotecnológicas se financia de forma privada, el gobierno de China financia casi toda la investigación con plantas biotecnológicas y tiene planeado elevar el presupuesto en investigación en un 400 por ciento antes de 2005 (aunque se queden un tanto lejos de su objetivo). Algunas compañías estadounidenses consideran este entorno regulador favorable como un incentivo. Monsanto (con base en San Luis, Missouri) persigue formar una iniciativa conjunta con Hebei Provincial Seed Company en China para desarrollar otras variedades de plantas. China busca oportunidades para firmar contratos de investigación y se ha convertido en exportadora de métodos de investigación biotecnológica y materias primas. Las ventas de genes, marcadores y otras herramientas además de las variedades modificadas genéticamente, pueden provocar que otros países con políticas más restrictivas sobre la modificación genética se fijen en este líder mundial.

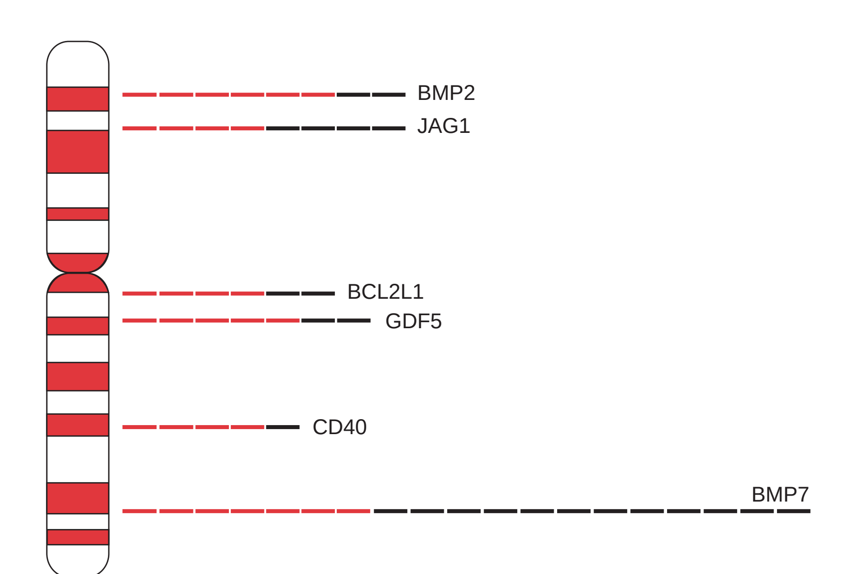


Figura 12.8 Ejemplo de la actividad de las patentes sobre un cromosoma humano Se muestra el cromosoma 20 con cada barra horizontal representando una patente que reclama una secuencia de genes ubicada en esa región. Las etiquetas indican la ubicación genética de los genes más patentados.

chos de usos comerciales de los genes como pruebas de diagnóstico para pruebas genéticas. En la Figura 12.8 se muestra un mapa de los puntos conflictivos para las patentes del cromosoma 20.

TÚ DECIDES

Patentes de marcadores de secuencia expresadas

En los primeros días de la secuenciación genética a comienzos de la década de 1990, los investigadores del Instituto Nacional de Salud estadounidense (NIH) describieron un nuevo método para identificar áreas del genoma humano mediante la utilización de marcadores de secuencia expresada (EST, por sus siglas en inglés). Estas secuencias están cerca de genes importantes y se podrían utilizar como puntos de marcaje para determinar otras secuencias solapantes. A diferencia de los genes totalmente secuenciados con funciones conocidas, un EST indica sólo el hecho de que el ácido nucléico se expresa en esta área. Algunos investigadores (incluso del NIH) intentaron archivar solicitudes de patentes que reclamaban EST y cualquier gen o proteína asociado a ellas (lógicamente, si la secuencia está expresada, debe resultar importante para la célula, ¿no es cierto?). La USPTO comenzó a rechazar las solicitudes de EST en 2001 por falta de «utilidad». Las compañías con solicitudes de patentes EST han apelado a esta decisión y han perdido (asunto Fisher 2005). Se mantuvo el requisito de la utilidad de que una secuencia genética se pueda patentar si se sabe que la proteína se expresa a partir de esa secuencia y si la proteína tiene una función como producto biológico. ¿Estás de acuerdo con esta decisión, o piensas que ralentizará la investigación para encontrar nuevas secuencias relevantes? ¿Piensas que los EST no se deberían patentar y deberían estar disponibles para todos en GENBANK (véase www.ncbi.nlm.nih.gov)? Tú decides.

12.7 Los productos biotecnológicos en el mercado global

La biotecnología es una empresa global. En este punto, la comunidad internacional sigue involucrada en las negociaciones preliminares acerca de la regulación de los productos biotecnológicos. Ha habido algunos comienzos prometedores. Por ejemplo, las Naciones Unidas (UN, por sus siglas en inglés) han creado un código voluntario para la liberación deliberada de los GMO. Desde que se propuso en el año 2000 se han solicitado los comentarios de la opinión pública y no se ha llegado a un acuerdo para una regulación vinculante (véase la bibliografía). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) está poniendo toda su atención en la biotecnología en los países en vías de desarrollo, facilitando orientación sobre seguridad y evaluación de riesgos. En general, no existe consenso o un conjunto claro de estándares para la importación y exportación de productos biotecnológicos. Sin embargo, hay motivos para ser optimistas. Los recientes desarrollos en Europa pueden servir como un modelo de cooperación internacional en el comercio y desarrollo de productos biotecnológicos.

En los últimos años la Unión Europea (EU, por sus siglas en inglés) ha comenzado a destacar como un foco de innovación y como un mercado atractivo de productos biotecnológicos. La constitución de la EU en 1993 agilizó enormemente el proceso de introducción de nuevos productos de biotecnología en el mercado. Hoy, la EU es un ejemplo excelente de un organismo gubernamental comprometido con la promoción del progreso científico.

Una parte fundamental del nuevo sistema es la **Agencia Europea para la Evaluación de productos Medicinales (EMEA)** por sus siglas en inglés), el equivalente a la FDA. La EMEA autoriza los medicamentos para el uso humano y veterinario. Asimismo, ayuda a expan-

PERFIL PROFESIONAL

Inspector de control de calidad

Los inspectores de control de calidad de las compañías biotecnológicas se responsabilizan de inspeccionar y controlar los productos para asegurarse de que cumplen los niveles específicos de calidad descritos en el contenido de los paquetes (y de que las especificaciones de los productos se archiven en las apropiadas agencias reguladoras). Esta es una buena carrera para una persona minuciosa a la que le guste trabajar en el laboratorio. Este campo tiene una alta tasa de empleo. El control de calidad interviene en todas las fases de producción. Algunos examinan las materias primas para verificar los requisitos especificados, otros prueban el equipamiento y verifican la precisión y otros prueban los procedimientos operativos estándares establecidos por la compañía (en función de la normativa de las agencias FDA, USDA, EPA y similares).

Aunque para algunas compañías basta con tener el título de bachiller y experiencia en control de calidad, la mayoría de los empleadores prefieren una diplomatura en un área técnica y un par de años de experiencia. Los inspectores de control de calidad son necesarios para determinar niveles de error en las mediciones, lo que requiere disponer de una buena formación en matemáticas. Asimismo, se requiere buena coordinación ojo-mano y aptitudes mecánicas. Es imprescindible tener conocimiento de las regulaciones de los productos de la industria. Los inspectores de calidad que tengan una licenciatura y experiencia pueden ascender a encargado. Se producen muchas transferencias dentro de las compañías desde la garantía de calidad al control de calidad. El departamento de control de calidad es responsable del mantenimiento de las tareas administrativas que las agencias reguladoras examinan. En muchas compañías se puede hacer carrera en la garantía de calidad y el control de calidad.

dir el conocimiento científico mediante la facilitación de información sobre nuevos productos en los 11 idiomas oficiales de la EU. Una vez que la EMEA ha aprobado un medicamento, se puede comercializar en los 27 países de la EU. Gracias a estas agilizaciones, se pueden introducir nuevos fármacos en el mercado en toda la EU en un año, en lugar de en cuatro o cinco, y mucho menos que en los ocho a once años que normalmente tarda la FDA en aprobar un nuevo fármaco. Desde el comienzo, el procedimiento centralizado ha aprobado más de 100 medicinas para humanos y 25 productos veterinarios, como se muestra en la Tabla 12.5.

Existe una diferencia notable entre la EMEA y la FDA. Como vimos anteriormente, la FDA está involucrada estrechamente con el desarrollo de productos desde el momento que una compañía busca un permiso para realizar ensayos clínicos. Sin embargo, en la EU las autoridades de cada país conceden la aprobación de ensayos clínicos, no la EMEA. En muchos casos, la EMEA no tiene contacto previo con la compañía o incluso conocimiento del producto hasta que se somete a revisión. Según las encuestas más recientes (2000), el 75 por ciento de las compañías farmacéuticas en la EU están satisfechas con el proceso tal como es.

Tabla 12.5 ESTADÍSTICAS DE APROBACIÓN DE PATENTES DE LA UNIÓN EUROPEA

Medicinas para uso humano	
Solicitudes totales	228
Autorizaciones concedidas	118
Medicinas para uso no humano	
Solicitudes totales	37
Autorizaciones concedidas	13

Fuente: Fox, S. (2002). GEN, «Bringing Drugs to Market in European Union» *GEN*, 20(5).

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. ¿Qué agencia estadounidense regula los aditivos alimentarios?
2. ¿Qué agencia estadounidense regula los cultivos manipulados genéticamente?
3. ¿Qué agencia estadounidense regula la calidad del agua?
4. ¿Qué agencia estadounidense regula la liberación medioambiental de los organismos diseñados genéticamente?
5. ¿Cómo regulan las patentes los fármacos y dispositivos?
6. ¿Cómo han afectado al mercado europeo de fármacos los nuevos procesos de aprobación agilizados?
7. ¿Dónde está el mayor número de solicitudes de patentes en la terapia contra el cáncer?
8. En tu opinión, ¿qué debería haber pasado según las regulaciones de la FDA para evitar el incidente del Fluvirin?
9. En tu opinión, ¿qué hay de malo en patentar un EST?
10. ¿Por qué a menudo los medicamentos están disponibles en la EU antes de estarlo en Estados Unidos?

Bibliografía y lecturas complementarias

Davis, P., Kelley J. J., Caltrider, S. P., et al. (2005). ESTs Stumble at the Utility Threshold. *Nature Biotechnology,* 23(10): 1227–1229.

Fiattmann, G. I., and Kaplan, J. M. (2001). Patenting Expressed Sequence Tags and Single Nucleotide Polymorphisms. *Nature Biotechnology,* 19: 683.

Fox, S. (2002). Bringing Drugs to Market in European Union. *GEN,* 20 (5).

Huang, J., Rozelle, S., Pary, C., and Wang, Q. Plant Biotechnology in China. *Science,* 295: 674–766.

Jensen, K., and Murray, F. (2005). Intellectual Property Landscape of the Human Genome. *Science,* 310: 239–240.

Koppal, T. (2002). Inside the FDA. *Drugs Discovery,* 5(10): 32–38.

Lawrence, S. (2007). Biotech Drugs Cost $1.2 Billion. *Nature Biotechnology,* 25(1): 9.

Michaels, D. (2005). Doubt Is Their Product. *Scientific American,* 292(6): 96–101.

Stix, G. (2006). Owning the Stuff of Life. *Scientific American,* 294(2): 76–83.

Vastag, B. (2006). New Clinical Trials Policy at FDA. *Nature Biotechnology,* 24(9): 1043.

Wilkie, D. (2005, March 14). The Chiron Case. *The Scientist,* p. 40.

Yang, X., Tian X. C., Kubota, C., et al. Risk Assessment of Meat and Milk from Cloned Animals. *Nature Biotechnology,* 25(1): 77–83.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Capítulo 13

Ética y biotecnología

Tras completar este capítulo deberías ser capaz de:

- Definir la bioética y explicar cómo se relaciona con la biotecnología.
- Identificar diferentes percepciones del pensamiento ético.
- Identificar posibles problemas éticos relacionados con la biotecnología.
- Plantear preguntas y técnicas que puedan solucionar los problemas éticos identificados en este capítulo.
- Identificar los resultados y las dificultades relacionados con las diferentes percepciones éticas.
- Describir las consideraciones éticas de las investigaciones con humanos.
- Debatir las interacciones entre ciencia, economía, comunicación y políticas públicas.
- Comprender y explicar las controversias y los problemas éticos relacionados con las pruebas genéticas, las células madre y la clonación.
- Describir las posibles salidas profesionales que ofrece la bioética.



La bioética tiene en cuenta aspectos como la vida humana. John y Lucinda Borden testificando ante una cámara estadounidense durante una vista sobre investigación embrionaria. John tiene en brazos a sus gemelos, Luke y Mark; Lucinda muestra una foto de los gemelos en estado embrionario. Luke y Mark fueron adoptados como embriones congelados.

13.1 ¿Qué es la ética?

La ética es un código de valores que rige nuestros actos, en especial con respecto a otras personas. En general, la ética debe considerarse como unas directrices que separan lo bueno de lo malo, lo correcto de lo incorrecto. La rama de la ética que se ocupa de las implicaciones de la investigación biológica y de las aplicaciones biotecnológicas, en especial en relación con la medicina, se denomina **bioética.** La bioética tiene en cuenta aspectos sociales y morales, así como los posibles resultados del uso de técnicas biológicas y médicas.

De algún modo, la ética podría identificarse con el sentido común. Está claro que no se puede causar cáncer en un grupo de personas sin su conocimiento sólo para probar un nuevo fármaco para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, en muchos casos las opciones no son tan evidentes. A menudo, las decisiones deben tener en cuenta posibles compensaciones, acuerdos o, incluso, sacrificios. La bioética hace frente a algunas de las preguntas más importantes que se plantean en nuestra sociedad. En muchos aspectos, las decisiones que se toman hoy pueden afectar al futuro de la ciencia, de la humanidad y del mundo en el que vivimos.

El objetivo de este capítulo no es indicarte qué debes opinar sobre la bioética. En lugar de ello, pretendemos conseguir que entiendas cómo plantearte la bioética; animarte a plantear preguntas, pensar *cómo* plantear las preguntas adecuadas, recopilar todos los hechos, así como tomar decisiones basadas en la información y no en las reacciones emocionales. Es importante que entiendas que la ética es una *disciplina basada en los dilemas.* Los dilemas éticos surgen cuando una situación o un problema importante requiere un análisis cuidadoso para tomar decisiones que se consideren éticas.

Una pregunta fundamental que se debe plantear al enfrentarse a problemas bioéticos no es «¿Esto se puede hacer?», sino «¿Esto se debe hacer?». Si algo se debe hacer, la pregunta pasa a ser «¿Cómo se puede hacer de forma correcta?». Es importante que todo el mundo se plantee estas preguntas, en especial en áreas de la biotecnología en las que los descubrimientos y sus aplicaciones pueden tener un gran impacto en la salud humana y en el entorno. Estas preguntas no sólo llegan al corazón de la sociedad, sino también al fondo de la ciencia y su función en la sociedad. Por ejemplo, observa la fotografía de la Figura 13.1. Recientemente, los científicos han implantado células de ratón en embriones de pollos para demostrar que las células de los ratones pueden recibir señales del embrión de pollo para inducir el desarrollo de dientes, algo que normalmente no sucede en los pollos. Los embriones de pollo comenzaron a desarrollar dientes, pero no se permitió que se desarrollaran hasta la edad adulta. Sin embargo, algunas personas se escandalizan con experimentos como éste, ya que nos trae a la mente imágenes de pollos mutantes tipo «Frankenstein» con dientes anormales. La imagen del pollo que aparece en la Figura 13.1 fue creada por fotógrafos para impresionar al público y dar importancia a la noticia. Por lo tanto, ¿el hecho de que la tecnología permita crear embriones de pollo con dientes es razón suficiente para hacerlo? ¿Debería permitirse que los embriones se conviertan en pollos adultos con dientes? ¿Es esto ético? ¿Qué opinas?



Figura 13.1 Crecimiento de dientes en pollos. ¿Debería hacerse?

Aproximaciones para la toma de decisiones éticas

Antes de explorar algunos de los actuales problemas bioéticos, analicemos algunos de los métodos más importantes del pensamiento ético. El estudio de la ética es tan antiguo como la humanidad. El planteamiento de dudas sobre nuestros deberes y responsabilidades con respecto a otros miembros de la comunidad humana nos acompaña desde hace años. Hipócrates (460-361 a.C.) puede considerarse como el primer **bioético.** Según él, el paciente era más importante que la enfermedad en su estudio de la medicina, y consideraba de vital importancia el hecho de que la vida humana fuera sagrada. Durante años, los médicos se han comprometido a cumplir los principios del **juramento hipocrático** («no matar», «ayudar o, al menos, no provocar daño») en su práctica con los pacientes y durante el desempeño de su profesión.

El pensamiento y los métodos éticos para hacer frente a los problemas se suelen dividir en dos puntos de vista principales (aunque también existen otros métodos). Una es la **percepción utilitarista,** o ética consecuencialista, que iniciaron el filósofo escocés Jeremy Bentham (1748-1832) y el filósofo inglés John Stuart Mill (1806-1873). Esta percepción establece que algo es bueno si es útil, y una acción es moral si maximiza el placer del ser hu-

mano; en resumidas cuentas, esta percepción pretende lograr «el máximo beneficio para la mayoría».

La segunda percepción es la **percepción deontológica, método kantiano** o ética del deber, que procede principalmente del filósofo alemán Immanuel Kant (1724-1804). Esta percepción se centra en determinados imperativos o principios absolutos que debemos seguir en función de nuestro sentido del deber y que deben regir nuestros actos.

La bioética moderna se nutre de teorías más recientes, que se basan principalmente en el trabajo de dos éticos de la década de 1970: Joseph Fletcher y Paul Ramsey. Estos filósofos definieron las dos principales percepciones del pensamiento ético mencionadas: Fletcher el utilitarismo (también denominado «ética situacional») y Ramsey la deontología (u «objetivismo»).

El utilitarismo se centra en las consecuencias, no en las intenciones. Otra manera de definir esta teoría es que «el fin justifica los medios». La intención es calcular cuáles serían las consecuencias de una acción y sopesar las distintas consecuencias. Si podemos analizar el devenir de diferentes acciones para determinar cuál de ellas tendrá más efectos positivos en un mayor número de personas, entonces podemos ofrecer una respuesta a la pregunta relacionada con lo que se debe hacer. De alguna manera, es un método elegante para tomar decisiones. Todas las posibilidades se pueden valorar para definir sus posibles ventajas, y la decisión se hace más cuantitativa. La desventaja de este cálculo es que hay que asignar un valor a todos los aspectos que se tienen en cuenta. ¿Cómo se asignan dichos valores? Algunos dirán que algunas de las cosas más importantes en la vida (el amor y la familia) no se pueden cuantificar fácilmente, mientras que otras cosas (bienes materiales y vida útil) se pueden incluir en los cálculos porque son fácilmente cuantificables. Otra fuente de preocupación puede ser la persona que realiza los cálculos y asigna los valores. Por ejemplo, el cálculo utilitario sería poco recomendable si lo realizara alguien que pensara que los hombres valen más que las mujeres o que la principal consideración debería ser el margen de beneficios.

La deontología, u objetivismo, parte del punto de vista de que existen algunos valores absolutos (reglas inamovibles que no se pueden quebrantar) y que tenemos la obligación o el compromiso moral de adherirnos a estos valores absolutos. Un absoluto que se suele expresar es el valor de la vida humana, definido por Kant de este modo: «actuar del modo en que se trata siempre a la humanidad, ya sea con respecto a uno mismo o a otra persona, nunca como un simple medio, sino siempre como un fin». Esto se puede entender como el respeto por los demás; hay que tratar a los demás como fines en sí mismos, y no como medios para lograr un fin. Esta percepción se ha asociado a menudo con tradiciones religiosas, pero es un error suponer que la teoría ética objetiva es sólo una percepción religiosa, como también lo es pensar que todas las teorías religiosas sobre la ética se basan en los mismos absolutos. Las convicciones más profundas son sólo eso: puntos de referencia personales a los que se adhiere una persona. Una de las ventajas del objetivismo es que ofrece directrices estables en muchas situaciones que requieren la toma de decisiones éticas, ofreciendo una fórmula ética bien definida para tomar dichas decisiones. Una de las desventajas de esta percepción es que puede resultar o parecer demasiado rígida en su proceso de toma de decisiones, sin tener en cuenta factores que podrían ser importantes o sin considerar posibles cambios en los valores. Además, pueden darse situaciones o problemas en los que no exista una convicción o un absoluto claro y que requieran un análisis más profundo para definir los imperativos morales y poder definir la acción que se debe llevar a cabo.

Para poner un ejemplo sobre la diferencia entre el utilitarismo y el objetivismo, pensemos en una situación en la que una persona está desesperadamente hambrienta y no tiene dinero para comprar comida. Al pasar por una tienda, esa persona ve una barra de pan sobre una mesa. Un cálculo utilitarista podría tener en cuenta la necesidad de la persona, la comida disponible y la escasa pérdida que supondría para la tienda, así que concluiría que se puede coger el pan. Una percepción objetivista podría aplicar el absoluto «robar no está bien» y consideraría poco ético coger el pan.

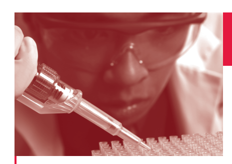
Ten en cuenta que existen otras teorías y métodos éticos aparte de los dos principales mencionados aquí, y que incluso estas dos percepciones sobre la toma de decisiones éticas se pueden mezclar algunas veces. Al enfrentarnos a la toma de decisiones éticas, el objetivo principal es recopilar información, analizar los hechos y tomar una decisión meditada y documentada. En los debates sobre problemas éticos, no es ni inteligente ni correcto ridiculizar o menospreciar la decisión de otra persona. Hay que tener en cuenta los efectos de nuestros actos. Conviene tratar de comprender y defender las decisiones éticas de cada uno de forma racional y esforzarse por tener en cuenta las decisiones de los demás.

Introducción de un ejercicio ético

A continuación, presentamos un caso típico en el que se debe tomar una decisión ética. Aunque la situación puede parecer dura porque describe un caso de vida o muerte, algunas de las biotecnologías desarrolladas también se enfrentan a problemas de vida o muerte y tienen consecuencias de amplio alcance.

Una familia llega al Gran Cañón del Colorado en coche. Los padres salen para comprar refrescos en un puesto y cierran las puertas del coche, dejando a tres niños dormidos en el asiento de atrás. Sin embargo, no activan el freno correctamente. Una vez que los padres han recorrido cierta distancia, el coche empieza a rodar lentamente hacia el borde del precipicio. Eres la única persona que se ha dado cuenta. Hay un hombre grande situado cerca del lugar al que se dirige el coche.

Puede empujar al hombre bajo las ruedas del coche; de este modo, el coche se detendría, aunque el hombre quedaría atropellado o caería por el precipicio. ¿Qué harías?



HERRAMIENTAS DEL COMERCIO

Un análisis cuidadoso y una mente abierta: potentes herramientas para los bioéticos

En contraste con las diversas aplicaciones de laboratorio e industriales de la biotecnología, la bioética no requiere un equipamiento especializado. La herramienta principal es una mente inquisitiva, abierta y lógica. Los bioéticos tienen que ser capaces de valorar una situación de forma cuidadosa, teniendo en cuenta las posibilidades desde numerosos puntos de vista. Los aspectos que deben tener en cuenta incluyen resultados y preocupaciones de tipo médico, religioso, filosófico, legal, científico y social. La bioética debe ser capaz y debe pretender tener en cuenta muchos puntos de vista diferentes que, a menudo, están en conflicto. Los bioéticos también tienen que ser inquisitivos; deben ser capaces de plantear preguntas en profundidad y determinar cuáles son las razones subyacentes tras las preocupaciones. También puede ser necesario realizar amplias investigaciones documentales para ahondar en el trasfondo de un asunto desde numerosas perspectivas. Los conocimientos idiomáticos pueden ser un activo adicional, ya que no todas las perspectivas ni todos los documentos están disponibles en un único idioma. La revisión de posibles resultados y la determinación de posibles vías para la resolución de los problemas requieren la aplicación de la razón y de la lógica, así como paciencia. En el mundo moderno, es también de suma importancia el conocimiento de los organismos reguladores y la normativa. Esto quiere decir que los bioéticos no sólo deben ser capaces de comprender la normativa y la legislación vigente, sino que tienen que poder interactuar con los políticos para facilitar la creación de normativas y leyes acordes. Por último, es vital poseer altos niveles en el ámbito de las relaciones interpersonales y de la comunicación (tanto oral como escrita) para explicar claramente las preocupaciones, las preguntas y los resultados a todas las partes implicadas.

En primer lugar, ¿cuentas con toda la información sobre esta situación? Hasta el momento, hemos descrito un caso en el que sólo hay dos opciones: dejar que el coche caiga por el precipicio o sacrificar a un hombre para salvar a los tres niños. La pregunta parece sencilla: «¿puede canjear su vida por la de los niños?». Un análisis utilitarista lo consideraría como un intercambio ético: una vida a cambio de tres, y también tendría en cuenta que las tres vidas son vidas jóvenes; un análisis objetivista consideraría que no está bien poner en peligro o matar a un ser humano, independientemente de las posibles consecuencias. ¿Existen otras opciones o alternativas posibles?

13.2 Biotecnología y naturaleza

Los seres humanos han empleado la biotecnología desde hace mucho tiempo. La fermentación, por ejemplo, es



TÚ DECIDES

¿Correcto o no?

El director general de una pequeña empresa de biotecnología de reciente creación está negociando una fusión de su empresa con otra empresa de biotecnología más grande por un valor de muchos millones de euros como resultado de una tecnología de clonación de células madre muy prometedora desarrollada por la pequeña empresa. Sin embargo, el director general también es consciente de que recientemente ha surgido un importante problema con esta tecnología. ¿Debe revelar el director general el problema y poner en peligro la fusión o debe permitir que la fusión siga adelante sin comentar el problema?
Tú decides.

una antigua técnica de biotecnología que emplea microbios que surgen de forma natural. La naturaleza ha estado realizando experimentos de biotecnología desde hace mucho más tiempo que nosotros. Las bacterias suelen modificar los plásmidos, dando lugar así a una recombinación y una mutación. De este modo, se expresan nuevos genes o nuevas combinaciones de genes que antes no estaban. Sin embargo, el juego cambia cuando participa el ser humano y crea nuevas combinaciones genéticas. En esos casos, se deben evaluar las indicaciones y se debe analizar nuestra implicación en el experimento.

Desarrollada en la década de 1970, la tecnología del DNA recombinante permite alcanzar un elevado potencial en la manipulación de las posibles combinaciones genéticas de la naturaleza. Tal y como se comentó en el Capítulo 3, la preocupación por esta nueva tecnología ha hecho que los científicos celebraran una conferencia en Asilomar, California (Estados Unidos), en 1975, y que solicitaran una **moratoria** (una detención completa temporal de cualquier investigación) hasta que no se valoraran la seguridad de la técnica y sus posibles consecuencias. Una de las preocupaciones más importantes era que las bacterias genéticamente modificadas podrían salir del laboratorio y escapar al medio ambiente, creando así nuevas enfermedades, transmitiendo enfermedades antiguas de un modo más virulento o desequilibrando el ecosistema, con la consiguiente reducción de algunas especies.

En definitiva, los científicos determinaron que la tecnología del DNA recombinante debería controlarse de un modo que garantizara la seguridad a los seres humanos y al entorno y, al mismo tiempo, permitiera avanzar a la ciencia. Se desarrollaron directrices específicas para diferentes niveles de contención de la bioseguridad en función de los peligros inherentes del sistema experimental empleado. Por ejemplo, los experimentos con bacterias no patógenas y secuencias de genes no patógenos sólo requieren equipos de seguridad mínimos, mientras que los experimentos con patógenos conocidos, células humanas o genes potencialmente patógenos requieren procedimientos de contención bastante más estrictos, y la investigación sobre patógenos

especialmente virulentos requiere la aplicación de los procedimientos de seguridad y contención más estrictos.

Células y productos

Como ya hemos comentado en este libro, tanto las bacterias como las células eucariotas se pueden manipular genéticamente para lograr la expresión de genes y proteínas extraños. Esto ha demostrado ser una técnica indispensable para la elaboración de productos muy valiosos desde el punto de vista médico. Las células pueden cultivarse de forma masiva en biorreactores y los productos pueden recogerse fácilmente en el medio de cultivo y pueden purificarse. Además, deben tenerse en cuenta las dudas sobre la seguridad que rodean a las bacterias y las células humanas en cultivo (se trata especialmente de preocupaciones éticas). Piensa en los retos éticos relacionados con la modificación genética de las células individuales y los productos obtenidos como resultado de estos cambios.

Cuando un producto está relacionado con una aplicación para el ser humano, no sólo se debe tener en cuenta el evidente problema de seguridad, sino también el de la **eficacia** de su uso previsto. Evidentemente, esto es importante para el paciente, ya que éste desea recibir un tratamiento eficaz. Sin embargo, la eficacia también es importante para el fabricante; si el producto no es eficaz, puede producirse una gran pérdida económica. La siguiente pregunta es si, desde el punto de vista ético, pueden llevarse a cabo pruebas en cultivos celulares o en estudios con animales. Para cualquier fármaco, una de las consideraciones más importantes es la dosis de eficacia de dicho fármaco; dicha dosis debe presentar una toxicidad y unos efectos secundarios mínimos. Por lo tanto, también sería importante establecer si el fármaco presenta algún riesgo cancerígeno o teratógeno. Estas consideraciones evitan problemas futuros, como que un fármaco pueda curar una enfermedad en una dosis determinada, pero pueda matar al paciente, causar cáncer o defectos de nacimiento en otra dosis, ya que tienen en cuenta la preocupación ética de dañar en lugar de ayudar al paciente, así como los posibles problemas relacionados con el empleo de los propios pacientes como cobayas para comprobar la eficacia del fármaco.

Debemos recordar la necesidad de ofrecer un **trato humano** a los animales que participan en estos estudios. Debemos determinar cuántos animales como mínimo habrá que emplear para probar el fármaco, qué tipos de tratamientos habrá que aplicar y si deberán emplearse roedores o primates. La selección de las especies puede afectar a la acción del fármaco. Uno de los mejores ejemplos de la diferencia de acción de los fármacos según la especie se produjo con el fármaco **talidomida,** que se diseñó en principio como un ligero sedante. Se probó en roedores de laboratorio estándar y se consideró seguro. Sin embargo, muchas mujeres embarazadas que tomaron este sedante dieron a luz bebés con graves defectos de nacimiento. Cuando el fármaco se probó en titís (un tipo de mono), se produjeron defectos de nacimiento parecidos a los detectados en humanos. Esto indica que la metabolización del fármaco puede variar según la especie. Este hecho parece indicar que todos los fármacos destinados a uso humano deben probarse en humanos o primates. Más adelante abordaremos detalladamente la experimentación en humanos, pero las posibles diferencias en los efectos sobre humanos con respecto a diversas especies animales deben tenerse siempre en cuenta

Cultivos GM: ¿Eres lo que comes?

Un avance clave en la ingeniería genética, y una de las mayores controversias, es la creación de **organismos modificados genéticamente (GM),** especialmente cultivos GM. El objetivo es obtener plantas que puedan resistir a plagas, enfermedades o climas duros, ofreciendo una mejor producción. Sin embargo, mucha gente se opone a los cultivos GM y no está dispuesta a ingerir alimentos modificados genéticamente. Antes de decidir si esta preocupación se basa en razonamientos o emociones, debemos analizar los hechos.

Los cultivos GM y otras plantas modificadas genéticamente dan lugar a varios tipos de preocupaciones. En primer lugar, se trata de la propia planta. Hay que determinar si las alteraciones en la genética de la planta ofrecen ventajas a la planta o, al menos, no dan lugar a una planta menos vigorosa. Es probable que el proyecto no continuara si no produjera alguna ventaja, como una resistencia a las plagas, pero conviene preguntarse si la integridad de la especie (mantenimiento de la composición genética original de una especie sin mayores cambios, de manera que siga siendo en esencia la misma especie) queda preservada de algún modo a pesar de la alteración. Debe saber definir si dicha **integridad de la especie** es importante o si crear una especie de planta «mejor» es más recomendable que intentar mantener una especie «antigua». Al hacerlo, debes determinar si la modificación genética de organismos, en este caso plantas, viola algún código ético.



TÚ DECIDES

¿Información al comprador?

Como existe una preocupación social sobre la posible seguridad de los alimentos GM, se han realizado propuestas para etiquetar todos los alimentos GM, aunque sólo exista una ínfima concentración de algún producto GM en el alimento. El coste de probar y etiquetar estos productos podría encarecerlos significativamente, y hoy en día se está debatiendo la necesidad real de etiquetarlos por motivos de seguridad. ¿El miedo social sobre los alimentos GM debería hacer que todos los alimentos estuvieran etiquetados? ¿Es un buen plan de *marketing*? Tú decides.

Otra pregunta, más amplia que la primera, es el posible efecto de las plantas alteradas sobre el ecosistema y sobre la **biodiversidad** (variedad de especies diferentes presentes en un ecosistema) en general. Debemos determinar el efecto de la introducción de una planta modificada genéticamente en el entorno local. Como nos centramos en plantas de cultivo, el efecto deseado no sólo será un aumento del crecimiento y de la producción por parte del cultivo GM, sino también un efecto sobre las posibles plagas y enfermedades. Un ejemplo es la soja Roundup Ready. Esta soja está modificada genéticamente para resistir al herbicida glifosato, permitiendo al agricultor emplear este herbicida en la cosecha para acabar con las malas hierbas sin interferir en el crecimiento de la cosecha y sin dañar las plantas de soja. Otro ejemplo es el maíz Bt (Figura 13.2). Recordemos que en el Capítulo 6 comentamos que este cultivo GM se modifica para producir una toxina de la bacteria *Bacillus thuringiensis,* responsable de la destrucción de las larvas del gusano barrenador y otras plagas de insectos que dañan las plantas de maíz.

Ciertas investigaciones sugerían que podía existir un efecto tóxico de los cultivos Bt en las mariposas monarca, aunque no eran uno de los insectos objetivo y no se alimentan de las plantas de maíz. Por lo tanto, sería importante averiguar si la toxina afecta a determinadas especies o grupos de insectos y si pueden verse afectados insectos que no forman parte de los objetivos de esta toxina. Una duda que se planteó fue si la toxina podía propagarse o si sólo afectaría a la planta del maíz. Como el maíz se poliniza mediante el viento, el polen puede llegar a otras plantas y resultar tóxico para algunos insectos a cierta distancia. Los investigadores deben determinar la probabilidad de que esto ocurra. En el caso de las mariposas monarca, el estudio indicó que el polen del maíz puede propagarse mediante el viento a las asclepias (que son una fuente de alimento para dichas mariposas) situadas junto al campo de maíz GM. Las mariposas monarca que se alimenten de dichas asclepias podrían ingerir el polen de maíz (y la toxina). Los científicos tuvieron que preguntarse si esta situación era probable y cuánto polen con toxina haría falta para matar una mariposa monarca. Piensa en los tipos de experimentos que realizarías para dar respuesta a estas preguntas. Recientemente, muchos estudios de larga duración han demostrado que no existen efectos negativos en la exposición de la mariposa monarca a cultivos Bt.

Podrían producirse efectos de polinización cruzada entre el maíz Bt y, de este modo, producirse una transferencia de los genes modificados a otras especies ajenas al cultivo (por ejemplo, otras plantas que podrían adquirir el gen de la toxina y aniquilar insectos deseables como la mariposa monarca). Debes considerar la probabilidad de que esto ocurra. El proceso de introducción de plantas GM en el entorno natural requiere un estudio a fondo para analizar los posibles cambios a largo plazo en el ecosistema, así como los efectos de la biodiversidad. Otro aspecto que se debe tener en cuenta es la propagación de plantas GM a otras zonas más allá de los terrenos cultivados. Elabora tus propios planes para controlar la proliferación de plantas GM en el medio ambiente.

La idea de la posibilidad de que se produzca un hecho, la **probabilidad estadística,** es otro concepto importante que hay que tener en cuenta. Al llevar a cabo decisiones éticas, es importante determinar con precisión las posibilidades de que se produzca un evento «perjudicial».

Otro aspecto que se podría tener en cuenta sería la valoración del efecto negativo del posible evento. Como muchas de las consecuencias se desarrollarían con el tiempo,

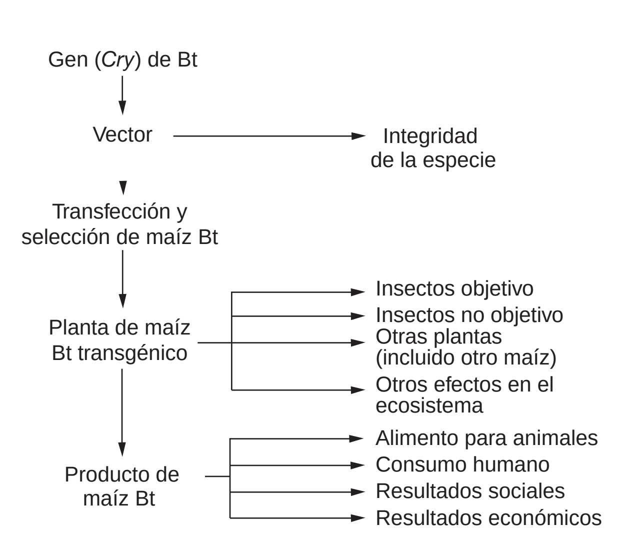






Figura 13.2 Posibles interacciones y consideraciones sobre un cultivo GM: el maíz Bt Los cultivos modificados con Bt se diseñaron para proteger las plantas contra plagas como el gusano de la mazorca del maíz (fotografía superior) y el gusano barrenador, pero poco después de su implantación, surgieron dudas sobre los posibles efectos sobre insectos que no eran objetivo de la toxina, como las mariposas monarca (fotografía inferior).

debes tener en cuenta la probabilidad de que se produzca un determinado resultado.

Los bioéticos y los científicos emplean a menudo cálculos estadísticos para determinar la **valoración del riesgo.** La valoración del riesgo tiene en cuenta la posibilidad de que se produzca un hecho perjudicial o no intencionado. Aunque no lo percibas, la valoración de riesgos forma parte de la toma de decisiones del día a día. Por ejemplo, sabes que cada vez que conduces, existe el riesgo de que tengas un accidente. Suponiendo que no temes conducir, la valoración del riesgo seguramente te indique que la posibilidad de que se produzca un accidente no es superior a la necesidad de llegar al lugar de destino. El empleo de teléfonos móviles, los viajes aéreos, el consumo de alcohol o una dieta poco saludable son otros ejemplos claros de los ámbitos de valoración del riesgo en la vida cotidiana.

Otro aspecto que se debe tener en cuenta hace referencia al producto del cultivo GM: debemos tener en cuenta cómo se va a emplear; si es seguro como alimento para los animales y si es seguro para el ser humano. También se deben recopilar todos los hechos y hay que llevar a cabo evaluaciones documentadas. Como la toxina va destinada a insectos, parece poco probable que afecte a animales o humanos. Sin embargo, no basta con suponerlo; deben existir pruebas que puedan verificar esta seguridad. Piensa en algunos experimentos que podrías realizar para comprobar la seguridad de un producto GM.

No debemos centrarnos solamente en el gen en cuestión, sino preguntarnos si otros genes o productos presentes en el cultivo GM podrían resultar de interés para la valoración. Por ejemplo, en muchos casos, se emplean genes de resistencia a los antibióticos como marcadores de selección para células modificadas genéticamente. Estos genes, ¿siguen presentes en el cultivo GM? y, en caso afirmativo, ¿pueden transferirse a través del alimento para destruir bacterias? Debes volver a considerar la posibilidad de que el DNA o las proteínas que se hayan ingerido sigan activos tras la digestión. En la Figura 13.2 se muestra un gráfico de algunas de las posibles interacciones y aspectos que se deben tener en cuenta.

También hay que determinar si el producto de un cultivo GM debe someterse a una cuarentena tras la cosecha. Esto nos lleva de vuelta al aspecto de la seguridad, en especial en lo relativo a la exposición del ser humano o al consumo del producto. Es prácticamente imposible diferenciar entre el maíz no modificado y el maíz Bt a simple vista o, incluso, mediante un microscopio. Algunas empresas han puesto a la venta kits de pruebas que emplean tests de DNA o anticuerpos para detectar cultivos GM. En el caso del maíz Bt, parte del cultivo acaba en productos destinados al consumo humano, como los tacos mejicanos. La principal preocupación es la posibilidad de que se produzcan reacciones alérgicas al maíz modificado. ¿Se te ocurre algún mé-



TÚ DECIDES

¿Es necesario que las empresas alimentarias rechacen alimentos GM?

Hasta hace poco, la política de las empresas alimentarias era rechazar los ingredientes de alimentos GM en sus productos; en algunos casos, se empleaba este rechazo como reclamo publicitario (p. ej. «Sólo ingredientes naturales»). ¿Es esta la mejor política de cara a los consumidores?

Cada año, se retiran del mercado estadounidense múltiples productos alimentarios que presentan fragmentos de insectos, hongos tóxicos, bacterias y virus. Estos contaminantes están presentes de forma «natural» en el suelo donde se han cultivado. Toxinas como la fumonisina y otras micotoxinas que crecen en los granos son muy tóxicas y causan enfermedades mortales en el ganado que las consume, así como cáncer de esófago en los humanos. La FDA es muy consciente de los peligros que entrañan las micotoxinas y ha establecido unos niveles máximos de fumonisina en productos alimentarios como el maíz. Estos máximos recomendados no han sido del todo positivos.

En 2003, la agencia de seguridad alimentaria del Reino Unido (UK Food Safety Agency), que es el organismo equivalente a la FDA estadounidense, realizó pruebas en seis productos de maíz orgánico y en 20 productos de maíz convencional para detectar los niveles de fumonisina. Los seis productos de maíz orgánico presentaron niveles elevados de fumonisina, entre 9 y 40 veces el nivel recomendado, y se retiraron del mercado de forma voluntaria. Por el contrario, al modificar genéticamente el maíz introduciendo el gen Bt, éste expresa una proteína que no sólo es tóxica para los insectos perjudiciales para el maíz, sino que reduce las infecciones causadas por el hongo *Fusarium* y los niveles de la micotoxina fumonisina. La proteína expresada es tóxica para los insectos, pero no perjudica ni a los pájaros, ni a los peces ni a los mamíferos, incluido el ser humano. Si tenemos en cuenta los posibles daños ocasionados a bebés y adultos debido a la fumonisina en alimentos y productos alérgenos (que se pueden eliminar mediante el empalme genético), la responsabilidad de las empresas alimentarias por no emplear productos GM aumenta.

Si las empresas alimentarias y los productores de alimentos logran eludir la responsabilidad legal derivada de su insistencia por emplear cultivos que pueden resultar más seguros debido a la modificación genética, ¿siguen siendo «moralmente culpables» del daño que generan de forma consciente al emplear productos alimentarios no modificados genéticamente? Las empresas alimentarias, ¿no tendrían que emplear los métodos de producción más seguros, ya sea mediante la modificación genética o de cualquier otra manera? ¿Qué pueden hacer los consumidores para promover los alimentos seguros? Tú decides.

todo para comprobar la probabilidad de que se den dichas reacciones?

Uno de los aspectos que hay que tener en cuenta es si la toxina sobreviviría a la preparación del alimento y seguiría provocando una reacción alérgica. Algunos países limitan de forma estricta la importación de cultivos GM, mientras que en otros se tiende a etiquetar los alimentos para indicar su origen con respecto a plantas que pueden haber sido modificadas genéticamente. Algunas personas creen que, según los datos, estas restricciones no son válidas y pueden asustar demasiado a los consumidores. ¿Cómo reaccionaría si encontrara la etiqueta «GM» en la *pizza* o en los copos de maíz que suele consumir?

Aparte de las preocupaciones medioambientales y sobre la salud, también surgen dudas económicas y sociales con respecto al posible uso de cultivos GM. La capacidad de modificar las plantas para lograr una producción mejor y más barata puede revolucionar el sector agrícola. Es probable que consigamos más alimento a un coste más reducido para el agricultor y el consumidor. Sin embargo, estas ventajas pueden verse afectadas por posibles desventajas, como las preocupaciones por la seguridad antes mencionadas. Otros posibles usos de los cultivos GM incluyen la producción de compuestos útiles para la medicina. La seguridad y la eficacia son, de nuevo, aspectos clave en la valoración ética de estos compuestos. La política estadounidense actual no sólo requiere la cantidad de pruebas habitual para comprobar la eficacia y la seguridad de los compuestos médicos, sino también que se restrinja el crecimiento de las plantas GM: los campos sólo pueden estar rodeados por otras plantas que no se puedan ver afectadas por la polinización cruzada con la planta GM; hay que eliminar por completo todos los restos de la planta durante la recolección; y el suelo no se puede emplear durante una determinada cantidad de años tras la recolección

TÚ DECIDES

¿Cuánto se amortiza la inversión?

Monsanto, una empresa con sede en St. Louis, Missouri (Estados Unidos), obtuvo soja Roundup Ready manipulada genéticamente para resistir el glifosato de Monsanto, un herbicida común que aniquila casi todas las plantas. Las semillas de soja Roundup Ready son bastante más caras que las semillas de soja tradicional. Recientemente, Monsanto solicitó a investigadores privados que comprobaran si los agricultores de Nueva Jersey habían estado reciclando semillas de plantas de soja Roundup Ready plantadas el año anterior. El empleo de semillas recolectadas durante la cosecha anterior es una práctica común para muchos agricultores y les permite ahorrar dinero en semillas a la hora de plantar una nueva cosecha. Como Monsanto había invertido una gran cantidad de dinero en esa tecnología, quería que los agricultores compraran semillas de soja Roundup Ready cada año, pero los agricultores afirmaron que nadie les dijo que no podrían volver a plantar sus semillas. Monsanto se queja de que los agricultores están empleando su costoso y novedoso producto de forma gratuita.

¿Debería permitirse a los agricultores continuar con su práctica tradicional de reciclado de semillas? ¿O las empresas de biotecnología deberían poder requerir un uso restringido de sus productos? Tú decides.

¿Cría de animales o retoque de animales?

La modificación genética de animales plantea los mismos dilemas que la modificación genética de plantas. Las recientes aplicaciones de biotecnología en la cría de animales han incluido suplementos antibióticos en los alimentos e inyecciones de hormona del crecimiento o esteroides para aumentar el crecimiento de los animales. Los científicos deben analizar la aplicación de estos suplementos e inyecciones desde un punto de vista ético. En primer lugar, y debido a que se trata de animales del sector agrícola, los efectos de la modificación genética en los productos de estos animales (leche, carne, etc.) y la seguridad de estos productos para el consumo humano son la principal preocupación. Uno de los aspectos que se tuvieron en cuenta fue el tiempo durante el que los suplementos (en especial, las hormonas) perdurarían en el animal, es decir, si seguirían presentes en el momento del consumo por parte del ser humano. En caso de que así sea, los científicos deben determinar si habría efectos en el consumidor y si la hormona, en caso de estar presente, sobreviviría a la cocción o el proceso digestivo.

No se han producido muestras de preocupación sobre el efecto de los animales GM en el entorno, pero sigue habiendo dudas sobre la integridad de las especies y la salud del animal, así como sobre la seguridad de los productos para el consumo humano derivados de dichos animales. Hay que plantearse lo mismo con respecto a los animales modificados genéticamente para obtener productos de utilidad médica. Podría tratarse de animales transgénicos modificados para producir un factor de coagulación en su leche, animales transgénicos, como cerdos, con genes humanos para el trasplante de órganos a humanos sin rechazo, o vacas clonadas para consumo de carne. ¿En qué momento considerarías que la alteración de un animal deja de ser ética?

Trata de definir si existen límites éticos para la manipulación de una especie o para la manipulación de especies cruzadas. No olvides tener en cuenta si hay un punto en el que el animal podría adquirir suficientes genes, células o atributos humanos como para considerarlo humano, y si ese hecho cambiaría tu punto de vista ético sobre el empleo del animal para la investigación. Consulta de nuevo la Figura 13.1. Recientemente, científicos ingleses y franceses implantaron células de ratón en embriones de pollo para demostrar que las células de ratón podían reconocer las señales de desarrollo de las células de pollo para estimular la formación de dientes. La bio-

logía del desarrollo muestra interés en esos y otros estudios, debido en parte a que, aunque los genes implicados en estas señales de desarrollo no están activos en las aves (perdieron los dientes hace aproximadamente 70-80 millones de años), indica que dichos genes se pueden activar y pueden estimular el desarrollo de dientes cuando estén presentes las células adecuadas. Podrías preguntarte: «¿Y qué? ¿Quién quiere pollos con dientes?». Son buenas preguntas, y es cierto que cabe preguntarse si este tipo de experimentos son éticos con respecto a los animales. Sin embargo, también debes tener en cuenta que la información obtenida a partir de esos experimentos puede resultar tremendamente valiosa para comprender el desarrollo de los dientes y, en un futuro, poder desarrollar nuevos tratamientos de formación, sustitución y regeneración de dientes humanos; estos son los principales fines de la investigación.

Las especies animales salvajes modificadas genéticamente plantean otras preguntas éticas, incluidas las preocupaciones medioambientales. Además, en el caso de los animales transgénicos, existen las mismas dudas éticas que las ya mencionadas en el caso de las plantas transgénicas. En un intento por controlar las plagas o por equilibrar de otro modo el ecosistema, algunas personas han propuesto que se liberen animales GM en el entorno natural. Indica algunos de los posibles problemas éticos relacionados con estas propuestas, así como los métodos empleados para controlar o solucionar las preocupaciones éticas.

El dilema humano

Gran parte de las dudas relacionadas con las investigaciones biotecnológicas y su aplicación, así como los debates más intensos, giran en torno a los humanos. Incluso algunos de los procedimientos científicos más sencillos pueden provocar intensas emociones y generar una gran controversia cuando los seres humanos son objeto de dichos procedimientos. ¿Por qué crees que el empleo o el posible empleo de humanos de forma experimental provoca reacciones tan intensas? A continuación, comentaremos cómo la simple definición de ser humano se ha convertido en tema de debate. Por ahora, observaremos un sencillo ejemplo basado en un posible fármaco antineoplásico obtenido mediante biotecnología. Supongamos que el fármaco ha llegado a la fase en la que está listo para las pruebas clínicas. Debemos decidir a quién se le administrará el fármaco para realizar la prueba. Como se trata de un fármaco antineoplásico, deberemos suministrárselo a pacientes que padezcan el tipo de cáncer que combate este fármaco. No obstante, tenemos que decidir si se lo daremos a todos los pacientes con ese tipo de cáncer o sólo a pacientes en el estado más avanzado del cáncer, a aquellos que hayan agotado otras vías de tratamiento y para los que el nuevo fármaco experimental sea su última oportunidad. La conclusión racional es que, para este subconjunto de pacientes, no existe otro posible tratamiento, por lo que el tratamiento experimental supone su última esperanza. Sin embargo, es posible que el fármaco funcione mejor en pacientes que se encuentren en un estado menos avanzado del cáncer y resulte más eficaz. No obstante, los pacientes que se encuentren en las primeras etapas de la enfermedad cuentan con otras alternativas que ya han demostrado su seguridad y su eficacia (al menos, hasta cierto punto).

Una vez seleccionado el grupo de pacientes para realizar el estudio clínico, se presenta otro dilema. Los pacientes tienen derecho a ser informados de forma detallada sobre los posibles efectos (positivos y negativos) del tratamiento experimental. Sólo podrán participar por su propia voluntad en el ensayo cuando se les haya informado como es debido. Este proceso se denomina **consentimiento informado.** Los pacientes dan su consentimiento para realizar el experimento tras haber recibido toda la información sobre las posibles ventajas y riesgos subyacentes. El consentimiento informado es vital para cualquier procedimiento en el que participen humanos. Si un paciente no puede otorgar dicho consentimiento por sí mismo (porque sea demasiado joven o esté en coma, por ejemplo), un fa-



TÚ DECIDES

¿Los datos de los ensayos clínicos deberían ser públicos o son propiedad de la empresa farmacéutica?

Un proyecto de ley que podría ser aprobado por el Senado estadounidense reclama la inclusión de los resultados de los ensayos clínicos en una base de datos pública. Algunos afirman que esta información puede ayudar a los pacientes a decidir si desean participar, pero algunos miembros del sector farmacéutico opinan que la medida no es necesaria y que retrasaría la innovación. En 2002, los *Institutos Nacionales de la Salud* de Estados Unidos crearon Clinicaltrials.gov para ayudar a los pacientes y a los médicos a encontrar información sobre próximos ensayos clínicos. El registro actual cuenta con más de 31.700 ensayos clínicos en más de 139 países. Este registro lo han empleado de forma voluntaria la mayoría de las empresas farmacéuticas y de biotecnología porque excluye ensayos en su fase inicial, en los que se podría perder información confidencial. El nuevo proyecto de ley requerirá información sobre los ensayos en el primer estado de evolución, en los que participa un reducido número de pacientes sanos y que, según portavoces del sector, resultará de poca utilidad para los pacientes. Los que apoyan este proyecto afirman que las empresas podrían aprovechar el uso compartido de los ensayos en fase inicial para evitar repetir en sus fármacos nuevos los mismos errores que dieron resultados negativos anteriormente. En defensa del sector, las empresas de biotecnología se basan en financiaciones de capital riesgo. Se cree que, si los datos iniciales se comparten con otras empresas, la financiación para la innovación se agotaría. ¿Las ventajas compensan el riesgo de reducción de financiación para las investigaciones farmacéuticas? ¿Existe una solución mejor? Tú decides.

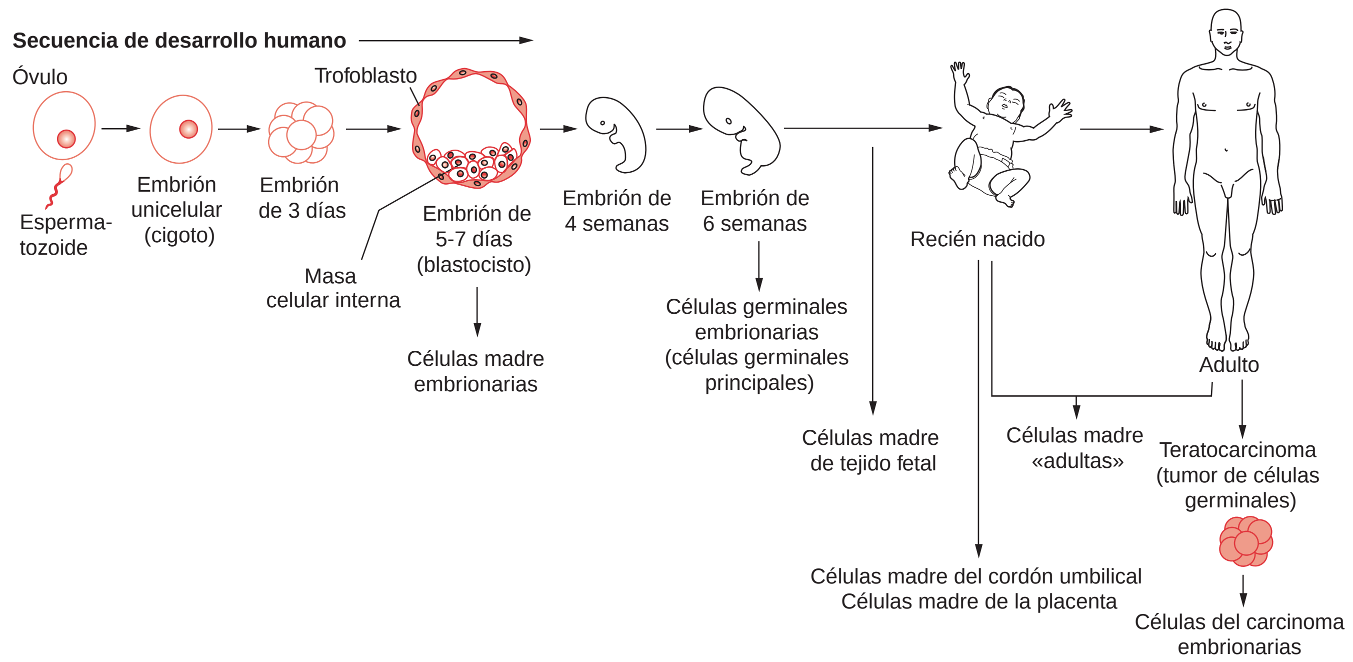


Figura 13.3 Orígenes de las células madre La utilización de embriones humanos como fuente de células madre es un asunto que genera mucha controversia, en parte porque plantea la pregunta siguiente: «¿Cuándo se puede considerar que el embrión es un ser humano?».

miliar o un tutor podrá firmarlo. Piensa si el consentimiento informado es tan importante.

Los **placebos** suponen un problema adicional en relación con los procedimientos experimentales con humanos. Las investigaciones científicas habituales constan de un grupo experimental (pacientes que reciben el fármaco) y un grupo de control (pacientes que reciben un placebo, un tratamiento seguro pero ineficaz, como una pastilla de azúcar o una inyección de suero).

En un **estudio doble ciego** totalmente aleatorio, ni los pacientes ni los médicos que administran el tratamiento saben quién recibe el fármaco real y quién recibe el placebo. El consentimiento informado juega un papel importante en este tipo de experimento. El empleo de placebos forma parte de la ciencia objetiva, pero debemos analizar si resulta ético. La ciencia objetiva no siempre es la mejor técnica o una técnica ética.

¿Qué significa ser humano?

Muchos de los debates éticos actuales sobre la biotecnología (en especial, los debates sobre células madre y clonación) hacen referencia al estado moral del embrión humano. Como comentamos en el Capítulo 11, las células madre son capaces de provocar increíbles descubrimientos en la **medicina regenerativa,** ya que permiten reparar o sustituir tejido dañado o afectado por la enfermedad en el caso de múltiples enfermedades como cardiopatías, apoplejías, enfermedad de Parkinson y diabetes. Existen múltiples fuentes para la obtención de células madre (Figura 13.3), incluidos embriones, células sanguíneas del cordón umbilical, tejido adulto e, incluso, células cancerosas «controladas». Gran parte del debate se ha centrado en la duda científica sobre la capacidad de estas células madre para transformarse en otros tipos de tejidos para el tratamiento de enfermedades; sin embargo, un elemento clave del debate es la cuestión ética. Como sociedad, no hemos sido capaces de decidir si es ético destruir embriones humanos en su fase inicial de desarrollo para su empleo en investigaciones que podrían servir a miles de pacientes. Al contrario de lo que ocurre con la donación de órganos, en la que una persona dona un órgano y continúa con vida, o la donación se produce cuando el donante ha fallecido, el proceso de recopila-

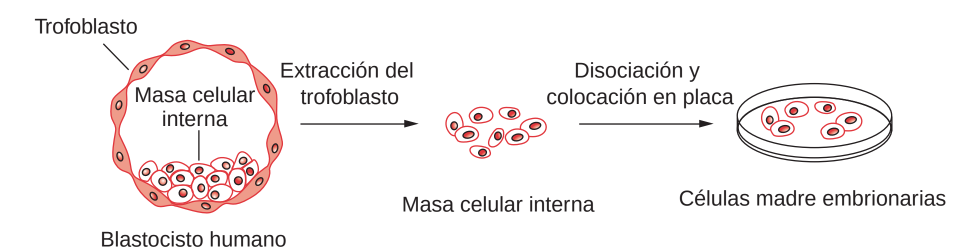


Figura 13.4 El aislamiento de células madre embrionarias de un embrión recién formado también destruye el embrión ¿Es ético destruir un embrión humano para obtener células madre que podrían beneficiar a muchos otros seres humanos?



TÚ DECIDES

Fama, vergüenza y células madre

El Dr. Woo Suk Hwang de la Universidad Nacional de Seúl en Corea del Sur fue considerado pionero en la investigación sobre células madre. El Dr. Hwang disfrutaba de billetes aéreos gratuitos para viajar por el mundo, cobraba altísimos honorarios por dar conferencias, acudía a fiestas de la alta sociedad, participaba con frecuencia en programas de televisión y realizaba otros actos no relacionados con la vida habitual de un científico. Hwang se convirtió en un motivo de orgullo nacional en Corea al anunciar que su equipo de investigación había creado las primeras células madre y el primer embrión humano clonados a partir de pacientes humanos. Esta investigación se publicó en 2004 y en 2005 en importantes periódicos y en la prestigiosa revista *Science*. Sin embargo, en diciembre de 2005, la fama y el trabajo de Woo Suk Hwang comenzaron a decaer con rapidez y dimitió de su puesto. Miembros actuales y antiguos de su propio equipo de investigación, así como los laboratorios que colaboraban con él aportaron pruebas que indicaban que se habían falsificado datos y se denunciaron técnicas poco éticas para la obtención de óvulos donados. Posteriormente, se determinó que los datos y las cifras se habían falsificado y manipulado, y que el laboratorio no clonó un embrión ni derivó células madre específicas del paciente como había anunciado. Entre estas acciones poco éticas está la preocupación sobre cómo se recopilaron los óvulos para el estudio (en un principio, Hwang afirmó que los ofrecieron donantes anónimas) y los datos falsos sobre el número de óvulos empleados. Se descubrió que los investigadores jóvenes del laboratorio de Hwang se encontraban entre los donantes y que los donantes recibieron dinero a cambio de sus óvulos. Las mujeres también recibieron una compensación económica para tomar fármacos para potenciar la fertilidad y ofrecer óvulos. La caída en desgracia de Hwang tuvo una gran repercusión mundial y sirvió para fomentar las protestas de agrupaciones contrarias a la investigación sobre células madre, que ya se habían mostrado escépticas sobre el potencial de las células madre tan alabadas por los investigadores.

Los bioéticos afirmaron que Hwang no cumplió con las normas éticas establecidas por la sociedad occidental al pagar a mujeres por sus óvulos y al emplear investigadoras jóvenes que trabajaban para él para obtener óvulos. Sin embargo, el Ministerio de Sanidad de Corea del Sur estableció que no se produjo ningún problema ético, ya que los óvulos fueron donados de manera voluntaria y no se hallaron pruebas de que las investigadoras jóvenes fueran obligadas a donar óvulos. De este modo, se determinó que Hwang no había violado la legislación vigente. El ministerio justificó su decisión afirmando que los médicos y científicos occidentales consideraban poco éticas las donaciones de investigadoras jóvenes vulnerables porque éstas podían sentir cierta presión por agradar a sus supervisores y podían realizar las donaciones de forma no voluntaria. El ministerio añadió que, aunque los investigadores surcoreanos siguen procedimientos éticos al realizar sus investigaciones, no suelen centrarse tanto en los aspectos éticos como los occidentales. ¿El Dr. Hwang procedió de forma ética al obtener óvulos de sus investigadoras jóvenes? Tú decides.

ción de células madre destruye al donante (el embrión; Figura 13.4).

Debemos resolver la cuestión principal, que analiza el estado moral o ético de un embrión humano. Biológicamente, el embrión es un ser humano, de la especie *Homo sapiens,* que acaba de comenzar su desarrollo.

Debemos comparar la relevancia de los distintos hitos del desarrollo para que se nos considere humanos con el simple hecho biológico de que el embrión es un miembro de la especie. Biológicamente, un embrión es un miembro de la especie humana, pero la cuestión moral de un embrión humano va más allá de la biología y también hace referencia a un concepto que algunos denominan **condición de ser humano.** Este término se ha empleado para definir una entidad que es apta para su protección basándose no en un valor intrínseco, sino en determinados atributos, como la conciencia de uno mismo. Indica las ventajas y los inconvenientes de este concepto de condición de ser humano. Uno de los debates que genera este concepto puede ser la cuestión de quién decide qué atributos son relevantes para evaluar si un ser humano determinado puede considerarse una persona. Un sistema como éste indicaría que dichos atributos no sólo se pueden obtener (a medida que nos desarrollamos tanto física como mentalmente), sino que también se pueden perder (al envejecer, enfermar o lesionarnos).

En lo referente a las investigaciones en embriones, algunos han abrazado este lema: «Si no es una persona, no es un problema». La razón para pensar así es que el embrión humano es microscópico y aún no posee corazón, ondas cerebrales, brazos o piernas. Por supuesto, todo ello se desarrolla más adelante; sin embargo, en una fase muy temprana, el embrión carece de lo que solemos asociar al concepto de humanidad. Existen diversas opiniones sobre el estado del embrión humano y no se ha llegado a un consenso sobre este asunto. Algunos afirman que sólo se trata de una agrupación de células, como un fragmento de piel. Otros piensan que es un proyecto de ser humano que merece un profundo respeto; es una persona en potencia. También hay gente que opina que un embrión tiene el mismo valor moral que cualquier otro miembro de la especie humana. Conviene plantearse la pregunta de si *cualquier* célula humana merece respeto como persona en potencia. Al combinar un óvulo y un espermatozoide, surge un embrión y cualquier célula somática puede hacer que el núcleo forme un embrión clonado. Ahora, piensa si hay algo de especial al contar con un genoma humano completo en un óvulo.

PyR

P Independientemente de que consideres que un embrión humano es una vida humana o no, ¿se te ocurre algún ser humano que podría no alcanzar el nivel necesario para considerar que es consciente de sí mismo?

R Las personas que están incapacitadas de forma temporal o permanente podrían no cumplir estos criterios. En este grupo se podrían incluir las personas en coma, los que sufren un estado avanzado de Alzheimer u otras afecciones neurológicas, así como aquellos que han sufrido una lesión cerebral traumática. En función de la definición de conciencia de uno mismo, los bebés podrían no cumplir los requisitos, ni tampoco las personas con discapacidad mental. En realidad, nadie cumple los criterios durante el sueño.

Al tener en cuenta el contexto de la utilización de embriones humanos para utilizar sus células madre embrionarias, el debate generado sobre la necesaria destrucción del embrión es muy polémico. Algunas pruebas indican la posible aplicación de la investigación sobre el embrión y las células madre embrionarias en el tratamiento de múltiples enfermedades.

En teoría, es cierto que las células madre embrionarias se pueden emplear para formar cualquier tejido, pudiendo así hacer trasplantes para reparar o sustituir tejido dañado o deteriorado por la enfermedad. Esto podría hacer pensar que sería ético destruir embriones humanos para la investigación si dicha destrucción permitiera llevar a cabo investigaciones que podrían dar lugar a tratamientos para pacientes que sufren enfermedades. Sin embargo, según las pruebas publicadas en la actualidad, la primera pregunta que debemos hacernos es si las células madre embrionarias son tan buenas como dicen para los posibles tratamientos. Otro aspecto que tiene componentes tanto éticos como científicos es si otras alternativas viables, como las células madre adultas, son igual de buenas. Las pruebas nos indican que las células madre adultas pueden ser tan eficaces para el tratamiento de enfermedades como las células madre embrionarias. Las cuestiones éticas toman nueva forma al preguntarnos si la investigación en embriones es necesaria para que la ciencia pueda explorar todas las posibles vías para realizar descubrimientos médicos o si ahora sabemos que la alternativa hace que las investigaciones controvertidas desde el punto de vista ético no sean necesarias. Por supuesto, una postura ética podría ser que, aunque no hubiera alternativas, el coste ético es demasiado alto para justificar la destrucción de embriones.

Resulta interesante que, incluso algunas personas que consideran los embriones humanos como personas en potencia y no individuos completos se oponen a la destrucción de embriones humanos por motivos éticos. El problema no está directamente relacionado con el embrión y su estado, sino con cómo ve la sociedad cualquier vida humana. Desde el punto de vista de la sociedad, nos adentramos en una senda peligrosa, en la que la destrucción de seres humanos para el uso o los experimentos médicos podría pasar del empleo de embriones al de individuos que ya han nacido. De nuevo, volvemos a la pregunta de la condición de ser humano, especialmente como creación social que podría clasificar a seres humanos en función de su calidad de vida y su utilidad para la sociedad.



TÚ DECIDES

¿Iguales o diferentes?

Ten en cuenta la situación siguiente. Se crea un embrión (selecciona tu técnica preferida) para una pareja que desea tener un niño. Sin embargo, sabes que la pareja es portadora de una enfermedad genética y que existe un 100 por cien de probabilidades de que el embrión padezca la enfermedad. Los científicos que trabajan con la pareja aíslan las células madre embrionarias del embrión. En cultivo, son capaces de reparar el problema genético de las células. A continuación, algunas de las células madre embrionarias se unen mediante células embrionarias tetraploides para crear un embrión que se implanta en la mujer y del que nace el bebé. El bebé nacido no padece la enfermedad genética y tampoco la padecerá ninguno de sus hijos. Además de las múltiples cuestiones éticas que se pueden debatir sobre este caso, debes tener en cuenta una: el niño que ha nacido, ¿es el mismo ser humano/individuo/persona que el embrión original? Tú decides.

Embriones sobrantes para la investigación o creación de embriones para la investigación

Al analizar la cuestión relativa al estado moral del embrión, existen diversas perspectivas en función del objetivo original para el que se creó el embrión o del método por el que se creó el embrión. Al contrario que la creencia común y errónea de que los fetos objeto de abortos se emplean para la investigación de células madre, como ya se comentó en el Capítulo 11, la principal fuente de embriones para esta investigación es el «exceso» de embriones procedentes de la fecundación *in vitro*. Estos embriones, congelados y almacenados después de que la pareja haya empleado otros embriones para la implantación y haya dado a luz al bebé, se pueden donar (con la aprobación de la pareja) para la investigación. En función de la clínica de fecundación *in vitro* o del país, los embriones congelados pueden eliminarse tras un determinado período de tiempo. Indica las consideraciones éticas necesarias en este caso. Algunos afirman que es éticamente válido emplear estos embriones para la investigación si la alternativa es que se eliminen, ya que así se puede obtener algún bien ético de su creación si dichos embriones pueden ayudar a una posible cura o aumentar los conocimientos de los científicos. Otros dicen que su destrucción con fines de investigación es incoherente con el propósito para el que se crearon en un principio.

Otro posible origen de embriones humanos es la creación específica de embriones para fines de investigación.

Algunos argumentan que el empleo de embriones sobrantes para la investigación es éticamente válido (opinan que de este modo se podría llevar a cabo algún acto positivo en lugar de someterlos a una destrucción segura), pero que la creación específica de embriones para la investigación no lo es.

Para determinar si este argumento es éticamente correcto, hay que tener en cuenta si existe alguna diferencia entre los embriones desde el punto de vista biológico, o si sólo existe desde el punto de vista del uso previsto de los embriones.

Clonación

La creación de embriones mediante clonación (transferencia del núcleo de células somáticas) hace plantearse muchas de las mismas cuestiones que la investigación de células madre, con la complejidad añadida de la técnica (Figura 13.5) y la posible «identidad» del clon. Un embrión clonado creado para su implantación en un útero se enfrenta a numerosos riesgos y a factores de seguridad para su propio desarrollo, tanto antes del nacimiento como después de éste. La tasa de éxito de los nacimientos y la posterior supervivencia de seres clonados es muy baja, y sabemos que existen determinados problemas relacionados con la salud de los clones.

Una de las consideraciones es si la creación de un embrión humano clonado con la intención de lograr un embarazo debería considerarse como otro tipo de técnica de reproducción asistida parecida a la fecundación *in vitro* o si (debido a los riesgos de seguridad y las bajas tasas de éxito) debería considerarse una investigación humana no ética. Las cuestiones sociales relativas a la identidad de un clon humano nacido también deben tenerse en cuenta. Por ejemplo, si una pareja decide tener un niño clonado mediante una célula donante de la mujer, el clon no será una hija genética, sino una hermana de la mujer, una gemela nacida mucho más tarde, y no estará relacionada en absoluto con el marido. Las consideraciones éticas relacionadas con los clones incluyen el hecho de cómo la falta de relación con uno de los padres puede cambiar el parentesco y las relaciones familiares. Ya que el clon es una «copia» de uno de los «padres», podría existir la posibilidad de que se espere que el clon nacido «tenga una vida mejor» que la persona clonada. Surge otro posible problema si se clona a una persona que ya ha fallecido. La estructura genética del clon ya será conocida, puesto que el proceso de clonación reproduce un individuo que ya existe. Se espera que un clon se ajuste a este legado genético, y se crean altas expectativas por parte de los padres, entre otros, basándose en los logros del donante del material genético empleado para crear el clon.

La gata clonada «cc» (Figura 13.6) tiene un aspecto muy parecido al gato que donó su material genético, pero los dibujos del pelaje son ligeramente distintos de los del donante. Estas diferencias se deben a los leves cambios genéticos que se producen durante el desarrollo. Nuestros genes determinan muchas de nuestras características físicas y nos predisponen a diversas enfermedades o comportamientos, pero, tras el nacimiento, hay muchas experiencias e influencias del entorno que nos convierten en quienes somos y en quienes acabaremos siendo. Estas experiencias no se pueden duplicar, por lo que el clon crecerá de un modo distinto al del ser clonado, por lo que puede comportarse de un modo muy distinto. Si se clonara a Einstein, podría convertirse en artista en lugar de científico. Hay muchas más cosas que nos afectan aparte de la genética, incluido el entorno y nuestras experiencias.

Por ahora, hemos planteado la creación de un embrión humano clonado con el objetivo de obtener un bebé. Sin

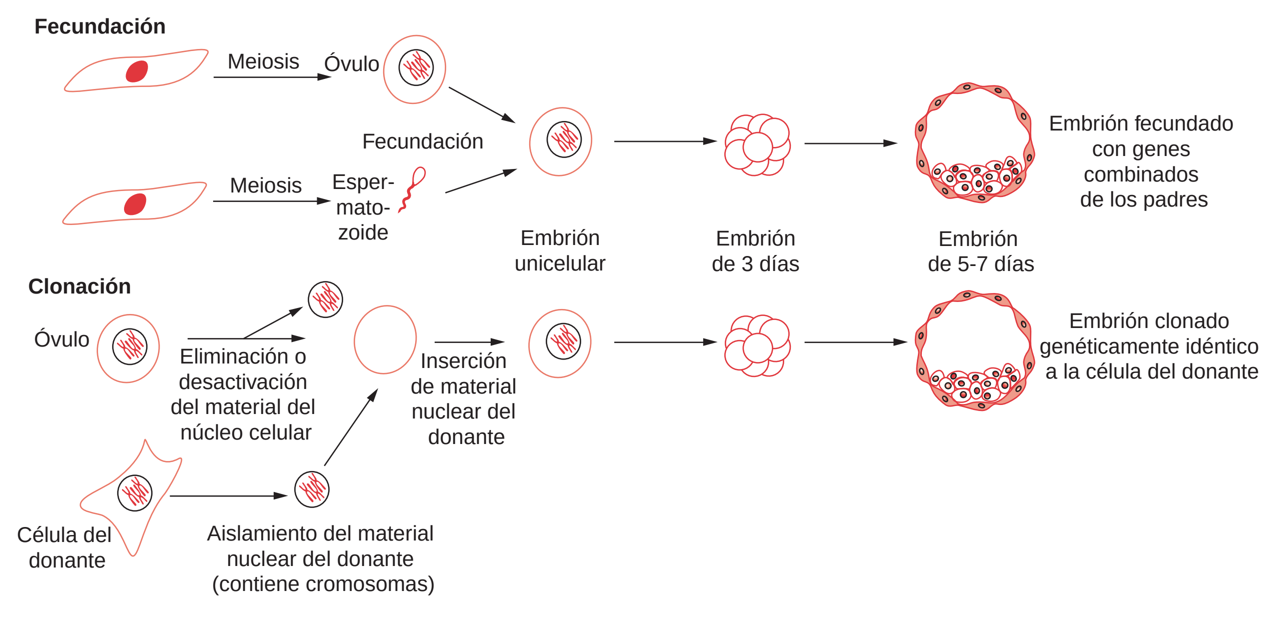


Figura 13.5 Creación de embriones por fertilización en comparación con la clonación (transferencia del núcleo de células somáticas)



Figura 13.6 **El primer gato clonado, «cc» (copia de carbono)**

embargo, este no es el único objetivo de la creación de embriones humanos clonados. La creación de embriones humanos mediante la clonación terapéutica puede dar lugar a células embrionarias deseadas para pacientes (Figura 13.7) y a modelos de investigación humana de gran valor para el estudio de enfermedades genéticas y del cáncer.

Aunque esto podría parecer una razón potencialmente válida y éticamente correcta para la creación de embriones humanos clonados, algunas personas afirman que dichos embriones no se deberían crear.

Uno de los argumentos en contra de la creación de embriones humanos clonados no se basa en el valor inherente del embrión como ser humano, sino en la teoría de que la creación de embriones humanos para estos propósitos puede llevar a una comercialización del ser humano, haciendo que la vida humana se pueda comprar, vender y usar, destruyendo su valor en el proceso. Hay otros que siguen opinando que no deberíamos crear embriones humanos como si fabricásemos vidas humanas, los denominados embriones de diseño.

Un motivo a favor de la creación de embriones humanos clonados se basa en la suposición de que, si un embrión no se ha creado por métodos normales (en este caso, la fecundación), no es humano. Cada una de estas razones se basa en diferentes definiciones del concepto del ser humano y del valor que se da a la vida humana. Conviene indicar que, hace 30 años, se produjo un debate ético similar sobre la definición del ser humano cuando se obtuvo a Louise Brown, el denominado bebé probeta, mediante una fecundación *in vitro*. Hoy en día, incluso los grupos más conservadores, incluidas muchas sectas religiosas, consideran que la fecundación *in vitro* es un método totalmente ético para concebir un embrión.

Derechos de los pacientes y material biológico

Piensa cómo te sentirías si el caso siguiente te sucediera a ti. Te tratan para curarte una enfermedad como la leucemia y tú donas muestras de células de sangre, de la médula ósea y del bazo para su análisis como parte del tratamiento. Más tarde, te das cuenta de que los médicos que te trataban han desarrollado líneas de células a partir de tus tejidos y han obtenido las correspondientes patentes, recibiendo así una importante compensación económica. Este caso ha sucedido y ha dado lugar a varias demandas por parte de los pacientes. En estos casos, los pacientes indicaron que, antes de otorgar su consentimiento informado para la extracción de células, no eran conscientes de que los médicos las emplearían en sus investigaciones y de que obtendrían beneficios económicos. Los pacientes y los abogados reclamaron que esos ejemplos eran una violación de la relación médico-pa-

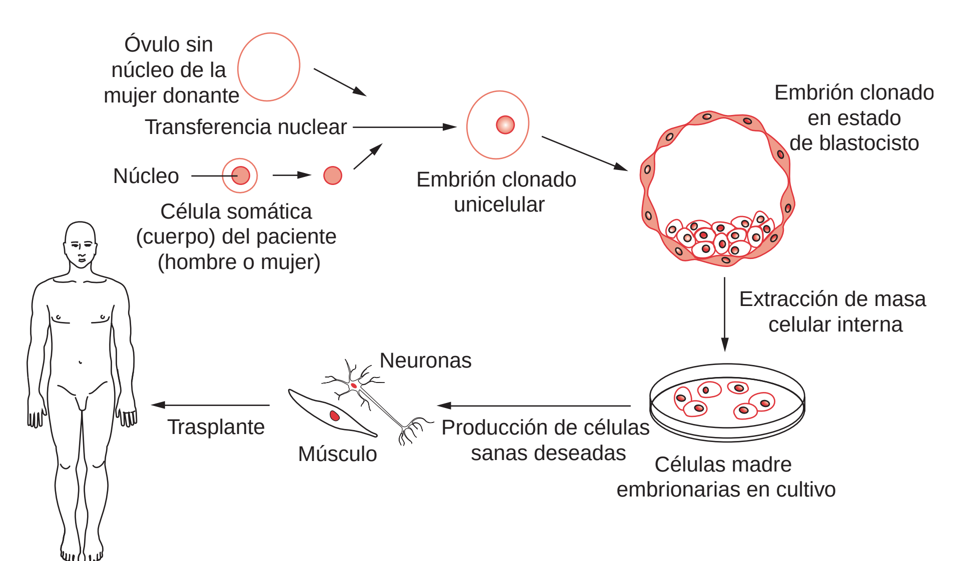


Figura 13.7 **Esquema teórico de la clonación terapéutica para obtener tejidos sanos para trasplantarlos al paciente**

ciente y un caso de enriquecimiento fraudulento; los médicos se beneficiaban económicamente de forma injusta a partir de los tejidos de los pacientes.

En la mayoría de los casos, los pacientes han solicitado compartir las compensaciones económicas derivadas de sus células. En muchos casos, los tribunales han decidido que los médicos tienen la obligación de indicar la intención personal de realizar investigaciones y llevar a cabo acciones potencialmente lucrativas no relacionadas con el tratamiento del paciente. Sin embargo, los tribunales también han establecido que los donantes de células y otro material biológico no tienen derechos de propiedad sobre dicho material, y que los médicos y los científicos que desarrollan patentes y reciben beneficios económicos derivados de dichos materiales no están obligados a compensar al paciente.

Muchos donantes no son conscientes de que no son los dueños de sus propias células y de que renuncian al control sobre sus tejidos cuando los donan. En relación con este aspecto, se han detectado casos en los que se han empleado muestras de esperma para inseminar óvulos y crear niños sin el consentimiento del donante de esperma, convirtiéndole en padre sin su conocimiento. A medida que las técnicas de medicina regenerativa y de células madre se hacen más habituales, es evidente que los derechos de los pacientes referentes al material biológico son cada vez más complejos y requieren un mayor análisis y estudio desde el punto de vista ético.

Legislación en desarrollo

La normativa actual de Estados Unidos sobre la clonación y la investigación con células madre está poco desarrollada y se está debatiendo. Desde 1996, el Congreso estadounidense prohíbe el uso de fondos federales para la creación de embriones humanos mediante la fecundación, la clonación, la partenogénesis o cualquier otra técnica de investigación. Asimismo, prohíbe el uso de fondos federales para investigaciones relacionadas con la destrucción de embriones humanos. No obstante, estas normas federales sólo se aplican en casos de financiación estatal: en la actualidad, no existe ninguna ley que prohíba la destrucción de embriones o la investigación de la clonación humana financiadas por el sector privado.

El discurso del Presidente Bush el 9 de agosto de 2001 sobre la investigación con células madre embrionarias humanas sólo incluyó que la financiación federal sólo cubría la investigación del discurso células madre. Su decisión fue que los fondos federales sólo se podrían emplear para la investigación en líneas de células madre embrionarias ya existentes, pero que no se podrían emplear para la creación o destrucción de embriones (de acuerdo con la normativa actual del Congreso). Se han realizado numerosos proyectos de ley en el Congreso para promulgar leyes para la investigación con células madre y la clonación humana. Algunas de estas leyes permiten realizar más investigaciones en embriones y clonaciones terapéuticas, mientras que otras son más restrictivas en cuanto a la investigación con células madre y prohíben cualquier clonación humana. Se ha propuesto una prohibición total de clonación humana ante la cámara estadounidense en dos ocasiones; la primera, en el verano de 2001 y la segunda, en la primavera de 2003. No obstante, el Senado estadounidense aún debe debatir este asunto.

Al no existir leyes federales sobre la investigación con embriones y la clonación humana, muchos estados han promulgado sus propias leyes. Algunos estados han dictado leyes que prohíben la destrucción de embriones para la investigación o la clonación humana (es el caso de Michigan, Iowa, Virginia, Luisiana, Pensilvania y Arkansas); otros (como California) han desarrollado leyes que apoyan la investigación de células madre embrionarias humanas y la clonación terapéutica humana. Casi todos los estados han debatido estos asuntos en sus asambleas legislativas. Sin embargo, en este momento, en Estados Unidos sólo existe un conglomerado de leyes y normativas relacionadas con la investigación de embriones humanos y con la investigación.

La situación internacional no es mucho más coherente. Algunos países (Reino Unido, China y Singapur) han aprobado leyes liberales que permiten la investigación con embriones humanos y la clonación terapéutica humana, pero la mayor parte de los países y organismos internacionales han sido más restrictivos, al menos en lo referente a la clonación reproductiva humana. Muchos países (incluidos Australia, Canadá, Francia y Alemania) han aprobado, o lo harán en breve, prohibiciones totales a la clonación humana, independientemente de la finalidad. Los tres primeros países mencionados han afirmado que pronto crearán leyes que sólo permitan un uso restringido de algunos embriones congelados para la investigación. Organismos internacionales como la Unión Europea y las Naciones Unidas también pretenden prohibir por completo la clonación humana. Los debates sobre esta investigación (y su análisis ético) han adquirido proporciones mundiales. Un análisis reciente del Ethics Working Party, perteneciente a un grupo denominado The International Stem Cell Forum, indicó que, de los 50 países analizados, todos prohibían expresamente la clonación humana o la intentaban disuadir firmemente.

Tus genes son tu identidad

El Proyecto del Genoma Humano ha permitido la identificación de genes responsables de numerosas enfermedades o que contribuyen a ocasionarlas. Esta información también ha permitido diseñar estrategias para tratar o prevenir enfermedades. Sin embargo, como lo que cuenta nuestro DNA se puede leer fácilmente, existe una preocupación creciente sobre la privacidad de dicha información. Nuestra secuencia de DNA puede ser un identificador único. Los investigadores deben prestar especial atención para mantener la confidencialidad de aquellos que han donado su DNA para realizar pruebas y secuenciarlo. Debido a que el flujo incontrolado de información científica supondría una rápida transmisión de ideas y

avances, lo siguiente que tenemos que hacer es idear métodos para que los científicos puedan proteger la información genética para garantizar que los sujetos o grupos de sujetos participantes en las investigaciones no vean peligrar su privacidad genética. Esto no sólo es importante para tranquilizar a los sujetos de las investigaciones, sino también para que los científicos mantengan la confianza de la gente y su deseo de participar en proyectos de investigación.

A medida que la identificación de los rasgos genéticos se hace más rutinaria en los centros clínicos, los médicos deben garantizar la privacidad genética de sus pacientes. Existen importantes preocupaciones sobre cómo se puede manipular la información genética de forma negativa por parte de empleados, compañías de seguros, agencias gubernamentales o a través de las percepciones de la sociedad. La privacidad genética y la prevención de la discriminación genética serán aspectos cada vez más importantes en los años venideros. En la actualidad, no existen leyes federales que regulen la privacidad genética y existe la discriminación genética. Por lo tanto, las personas deben confiar en las buenas prácticas éticas de los profesionales con los que tratan. En 2008, la Cámara de diputados estadounidense aprobó el proyecto de ley H.R. 483, la **Genetic Information Nondiscrimination Act (GINA, Ley de no discriminación por información genética).** El Senado también aprobó un proyecto de ley idéntico (S. 358) y, al poco tiempo, el Presidente Bush firmó la GINA. Esta ley prohíbe la discriminación basada en la genética y el uso inapropiado de la información genética en los seguros sanitarios y el empleo.

¿Más o menos humano?

Las técnicas genéticas avanzan rápidamente y, tras varios años de investigaciones, se han logrado los primeros casos de terapia génica humana. Como ya mencionamos en el Capítulo 11, estos primeros éxitos se obtuvieron con niños que padecían el síndrome de inmunodeficiencia combinada grave (IDCG). Los afectados por el IDCG nacen con un sistema inmunitario ineficaz, principalmente debido a un gen defectuoso en sus células inmunitarias. Los tratamientos que han obtenido resultados positivos han empleado células madre adultas procedentes de la médula ósea de los niños, han utilizado la ingeniería genética para agregar el gen correcto y han vuelto a colocar las células madre en los pacientes (consulta la Figura 11.15). Por ahora, los datos indican que todos los niños tratados se han curado de su inmunodeficiencia y pueden abandonar sus burbujas de aislamiento y llevar una vida prácticamente normal.

Reflexiona sobre algunas consideraciones éticas relacionadas con la tecnología de la terapia génica. Los tratamientos de terapia génica como los empleados para curar el IDCG parecen muy prometedores, por lo que cabría pensar que no deberían suscitar preocupaciones. Sin embargo, como se trata de procedimientos médicos experimentales, existen implicaciones de consentimiento informado, seguridad y eficacia. Uno de los aspectos relacionados con la seguridad que han surgido es el posible padecimiento de cáncer. Tal y como se indica en el Capítulo 11, un vector de adenovirus empleado para la terapia génica ha provocado leucemia en varios niños. Este efecto ha creado una gran preocupación sobre las futuras terapias génicas, en especial sobre las que emplean este vector viral. Además, algunos países han detenido todas las pruebas de terapia génica en humanos hasta que experimentos adicionales puedan demostrar la seguridad del tratamiento. Por lo tanto, una consideración ética podría ser la referente a los riesgos asociados a la alteración de la genética de un individuo, en especial la especificidad del establecimiento de la diana para la inserción del gen de sustitución.

Las terapias génicas somáticas actuales y propuestas incluyen el tratamiento de enfermedades genéticas existentes. No obstante, debemos contemplar la posibilidad de tratamientos genéticos en condiciones en las que sólo exista una *tendencia* genética hacia una enfermedad determinada y no exista la seguridad de que dicha enfermedad se produzca. Una posibilidad es el ámbito del cáncer de pecho, en el que se han identificado genes (como mutaciones en *BRCA1 y BRCA2*) que aumentan el riesgo de padecer dicho cáncer. Debemos tener en cuenta la diferencia entre una enfermedad genética y un atributo genético. En el caso de una enfermedad genética (como el IDCG), un problema genético existente origina la enfermedad detectada en el individuo. Sin embargo, un atributo genético no quiere decir que la enfermedad exista y no siempre hace que la enfermedad se desarrolle. Si tenemos en cuenta atributos que puede que no deriven necesariamente en una enfermedad o que ni siquiera se relacionen con un aumento del riesgo de padecer la enfermedad, estaremos llevando la ingeniería genética más allá del aspecto terapéutico y estaremos empezando a considerar otras posibles modificaciones genéticas como éticamente aceptables, yendo más allá del tratamiento de una situación existente para alterar e, incluso mejorar, la composición genética humana.

Puede que debas considerar si el tratamiento genético para curar una enfermedad existente es equivalente a la ingeniería genética para prevenir dicha enfermedad. Esta pregunta parece complicada, ya que una enfermedad se puede identificar de forma clara en comparación con la salud normal. El verdadero dilema radica en determinar qué es lo normal y qúe lo anormal. Puede que exista una fina línea de distinción ética entre el tratamiento de un problema genético conocido y la prevención de la mera posibilidad de que se produzca un problema.

Para aumentar algo más esta posibilidad, piensa si la mejora de nuestros genes individuales (quizá para aumentar la masa muscular o la capacidad de suministro de oxígeno de los glóbulos rojos) también podría considerarse necesaria desde el punto de vista médico para la salud del sujeto, aunque realmente se trate de una preferencia personal. La prohibición de estas alteraciones genéticas podría considerarse una violación de los derechos del individuo. Como el genoma de esta persona se alteraría para ser dis-



TÚ DECIDES

Qué tratar mediante la terapia génica

En el Capítulo 11, mencionamos algunas de las preguntas científicas sin resolver relacionadas con la terapia génica. También existen múltiples preocupaciones éticas sobre la terapia génica y los riesgos asociados a ésta. ¿El paciente y sus familiares comprenden los riesgos relacionados con las pruebas de terapia génica? Por ejemplo, Jesse Gelsinger (recuerda que, como ya indicamos en el Capítulo 11, Jesse falleció como resultado de su terapia génica) padecía una enfermedad relativamente leve que respondía bien a la medicación. ¿Debería haber participado en una prueba de terapia génica? Hoy en día, la terapia génica resulta muy costosa. ¿Deberían tener todas las personas acceso a los tratamientos de terapia génica independientemente del coste? ¿Qué tipos de enfermedades o afecciones deberían ser objeto de la terapia génica (por ejemplo, sólo enfermedades que provocan la muerte)? ¿Qué ocurre con las enfermedades para las que hay tratamiento y en las que la terapia génica se emplearía para que los pacientes no tuvieran que tomar diariamente medicación? ¿Qué ocurre con problemas estéticos como la calvicie? Tú decides.

tinto de lo normal, debemos volver a plantearnos la cuestión de si esa persona seguiría siendo un ser humano y qué características deberíamos incluir en esa definición.

La definición de qué hace que un organismo sea humano es cada vez más complicada al observar el potencial de la **ingeniería genética germinal.** En este caso, la alteración genética se lleva a cabo en espermatozoides, óvulos o embriones recién creados. De este modo, la manipulación resulta más eficaz que la ingeniería genética somática, ya que la modificación genética puede afectar a todas las células del individuo.

Como resultado, la alteración genética no se podrá heredar. Potencialmente, esto significaría que se podrían eliminar algunas enfermedades genéticas, ya que esos genes podrían eliminarse del genoma humano. Evidentemente, tampoco se podría heredar ningún problema resultante de la alteración genética, y lo mismo ocurriría con cualquier mejora genética. Piensa si este tipo de modificación genética, que no sólo afecta al individuo en cuestión, sino también a las futuras generaciones, puede ser éticamente aceptable. Algunos de los posibles resultados derivados de la eliminación o adición de genes al genoma humano puede incluir la eliminación de enfermedades genéticas o la disminución del riesgo de contraer enfermedades, la mejora del rendimiento, el aumento o la reducción de la esperanza de vida o el aumento del riesgo de padecer cáncer. Un ganador del premio Nobel fue un defensor de este tipo de investigación porque podía permitir el desarrollo de un «ser humano mejor», pero deberíamos pararnos a considerar qué significa «mejor» y qué definición debe emplearse al tomar estas decisiones. Otro posible resultado que se menciona algunas veces la alteración genética germinal podría ser la creación de una nueva especie humana superior a la actual; el concepto básico que subyace tras la **eugenesia** que intentó lograr Adolf Hitler, aunque no mediante la ingeniería genética, sino tratando de eliminar a los individuos que él consideraba inferiores. Una de las repercusiones negativas de este resultado sería la división de los seres humanos en distintas clases sociales según su genética.

13.3 Economía, papel de la ciencia y comunicación

No podemos obviar el hecho de que el dinero desempeña un papel principal en las decisiones sobre la investigación. Las inversiones privadas y los fondos públicos financian las investigaciones, y tanto las personas como las empresas quieren emplear la biotecnología para realizar descubrimientos que sean rentables. Las investigaciones científicas no sólo son caras, sino que los proyectos, las empresas y las carreras profesionales pueden surgir o desaparecer en función de la financiación o de la rentabilidad de la investigación. Es evidente que no hay dinero suficiente para cada propuesta científica, así que cada una de ellas se evalúa en función de si aumentará los conocimientos sobre los aspectos fundamentales de la ciencia o si dará lugar a un descubrimiento o un producto que mejore nuestras vidas. Existen comisiones de científicos que suelen revisar las investigaciones propuestas y toman las decisiones, pero la cantidad de dinero y algunas de las decisiones sobre la financiación también proceden de quienes aportan el dinero, en especial el Congreso estadounidense. La mayor parte de las decisiones se basa en el posible éxito de la ciencia, su innovación y su posible aplicación en el ámbito sanitario y general. No obstante, algunas de las decisiones se pueden ver afectadas también por el renombre de los científicos o por las presiones políticas de miembros del Congreso.

Deberíamos tener en cuenta no sólo cómo se evalúan las propuestas de investigación y su probabilidad de éxito, sino también la posibilidad de que contribuyan a la difusión de los conocimientos científicos (porque resulta difícil saber de dónde surgirán los siguientes grandes descubrimientos científicos y qué conocimientos podrán producir dichos descubrimientos). Otros aspectos que se deben tener en cuenta son los costes y el acceso a los tratamientos que se pudieran descubrir. La financiación de investigaciones que tienen como resultado tratamientos o productos que serán tan caros que sólo se los podrán permitir los ricos puede suponer una gran pérdida de dinero y tiempo, y es posible que antes deban explorarse otros métodos. Como las posibles fuentes de financiación para la investigación son limitadas, las decisiones de financiación deben realizarse teniendo en cuenta si la financiación de un tipo de investigación podría reducir la de otra investigación que podría obtener mejores resultados.

Los derechos de propiedad intelectual también son importantes a la hora de valorar las implicaciones éticas de las investigaciones y su financiación. Las **patentes** de propiedad intelectual (genes aislados, nuevas estructuras genéticas, nuevos tipos de células, OMG o, incluso, embriones) pueden ser potencialmente lucrativas para sus descubridores, pero también pueden plantear problemas éticos y científicos. Por ejemplo, ten en cuenta las posibilidades de que un gen humano se aísle y caracterice y, a continuación, su descubridor lo patente. La persona o la empresa que poseyera la patente podría requerir que cualquiera que tratara de investigar con el gen patentado pagara una cuota por su uso. Si dicha investigación diera como resultado una prueba de diagnóstico o una terapia, se solicitarían más pagos o derechos. De este modo, podría resultar difícil o costoso llevar a cabo investigaciones en determinados genes, o podría limitarse el uso clínico del gen patentado.

Algunos médicos ya se han quejado de que no se pueden permitir aplicar a los pacientes los gastos que suponen determinadas pruebas genéticas sometidas a restricciones de licencias. Sin embargo, la limitación de patentes de genes o herramientas genéticas podría eliminar el incentivo que suponen dichas investigaciones, en especial para las empresas que esperan obtener beneficios de la investigación. Elabora una lista de los posibles problemas éticos relacionados con las patentes de genes o células, y ten en cuenta las posibles alternativas o acuerdos a los que se podría llegar para que las investigaciones puedan continuar.

Las cuestiones éticas relativas a la biotecnología también hacen referencia al papel que desempeña la ciencia en la sociedad (Figura 13.8). La ciencia y la tecnología han dado lugar a descubrimientos e inventos que han hecho que vivamos mejor y de un modo más sano. Sin embargo, es importante tener en cuenta si los científicos deberían tener una libertad absoluta para realizar investigaciones. A menudo resulta difícil saber cuál será el origen del siguiente descubrimiento y, a veces, los nuevos descubrimientos proceden de fuentes inesperadas y se realizan a través de métodos que muchos científicos ni siquiera consideraban que merecieran la pena. Tenemos que determinar la manera en que la ciencia puede ofrecer un mejor servicio a la sociedad. El concepto general de regular algo que es impredecible y tan cambiante como los descubrimientos científicos es realmente difícil. También es difícil saber quién debe decidir sobre estos asuntos: los científicos, porque conocen el funcionamiento de la ciencia; los políticos, porque deben establecer las normas; o la sociedad, porque es la que se verá más afectada por las decisiones. Ten en cuenta los tipos de normativas que podrían ser más beneficiosas para las necesidades de la ciencia para seguir realizando descubrimientos y para la sociedad para aumentar la cobertura sanitaria y ética. La bioética se convierte en una parte importante del sector de la biotecnología, ya que los debates éticos suelen ser la fuerza motriz para articular leyes generales (leyes que establecen normas sobre el comportamiento de la población y ciertas leyes que regularán el sector de la biotecnología) una vez que parte de la población se pone de acuerdo en que es necesario crear una ley.



«CADA VEZ ME RESULTA MÁS Y MÁS DIFÍCIL TRABAJAR CON TANTO ÉTICO PULULANDO POR AHÍ.»

Figura 13.8 La toma de decisiones éticas es una parte esencial de la ciencia

Una comunicación honesta y precisa es vital para lograr el éxito de la ciencia en general y de la biotecnología en particular. Los científicos deben desear y ser capaces de comunicarse de forma abierta y amable con otros científicos y (aún más importante) con la sociedad en general. Un público que no puede comprender ni apreciar la importancia de la contribución que realiza la ciencia a su calidad de vida diaria no apoyará sus proyectos. Es necesario lograr una comunicación directa, sin exagerar el potencial de la investigación ni la inmediatez de los resultados, y sin emplear términos poco claros. Si la gente y los políticos creen que han sido engañados, los resultados podrían ser desastrosos tanto para la ciencia como para la sociedad. Si la gente cree que los científicos no se preocupan por los aspectos éticos de su investigación, los científicos lo tendrán difícil para ganarse su confianza. Es importante tener en cuenta todos los datos. La integridad de la investigación es vital, pero también lo es la integridad de la comunicación de la ciencia.

Muchas de estas cuestiones éticas incluyen la toma de decisiones complicadas que no sólo nos afectan a nosotros, sino también a otros seres vivos, tanto ahora como en el futuro. Siempre resultaría más sencillo que alguien tomara las decisiones por ti, especialmente las difíciles. Sin embargo, ese método da por hecho que quien toma las decisiones posee todos los datos o tiene los mismos objetivos que tú. También supone ceder parte de tu libertad individual para tomar esas decisiones, así como parte de tu responsabilidad personal. La libertad también implica responsabilidad; si puedes elegir, serás



PERFIL PROFESIONAL

Salidas profesionales en bioética

Hay más de 100 centros académicos de investigación bioética en todo el mundo. Debido a los problemas éticos relacionados con el Proyecto del Genoma Humano, el envejecimiento, la clonación y los OMG, el interés de la sociedad por la bioética es el más elevado de toda la historia, y existen numerosas e interesantes oportunidades profesionales en el campo de la bioética. Tradicionalmente, la ética médica ha sido tenida en cuenta desde que Hipócrates juró «En primer lugar, no hacer daño», pero la bioética no se ha convertido en una disciplina hasta la década de 1980. Al surgir problemas como el aborto o la eutanasia, los médicos consultaron a teólogos, sacerdotes, rabinos y filósofos para desarrollar el campo de la bioética. A finales de la década de 1980, aumentó el número de consultas e implicación por parte de abogados y científicos. Todas estas vías (médicas, religiosas, filosóficas, legales, científicas) han contribuido al desarrollo de la disciplina de la bioética, aunque aún no está claro el método para realizar estudios sobre bioética.

Muchas de las personas que trabajan en bioética cuentan con una formación inicial en ciencia o medicina y, a continuación, realizan un máster en bioética. Algunos comienzan estudiando derecho, otros realizando un doctorado en filosofía y, hoy en día, existen algunos programas de doctorado en bioética. Otros puntos de inicio pueden ser la antropología médica, sociología médica, historia de la medicina o enfermería. Sigue existiendo una gran controversia sobre la mejor formación para desarrollar unos conocimientos adecuados para la bioética. Un acuerdo prácticamente general es que la formación debe ser interdisciplinaria: debe incluir una amplia base de conocimientos, el manejo de idiomas y una capacidad de comunicación en múltiples disciplinas como la religión, la ciencia y la medicina.

La selección de la vía de formación adecuada depende en gran medida de los intereses personales. Comienza valorando tus propios intereses y conocimientos con respecto a la bioética. También deberías comprobar qué posibles puestos existen para poder prever cuál sería la formación necesaria. Un buen punto de inicio es el sitio web sobre salidas profesionales en el sector de la bioética de los Institutos Nacionales de la Salud de Estados Unidos (consulta la lista de información actual sobre páginas web del sitio web de guía).

Los conocimientos éticos pueden convencer a posibles empleadores. Cuando los empleadores del sector de la biotecnología buscan posibles empleados, no sólo se fijan en la formación académica y la experiencia laboral. El cumplimiento de las especificaciones de la descripción del puesto es primordial, pero si cuentas con conocimientos intangibles que pueden hacer que los posibles empleadores se pongan en contacto contigo para una entrevista suele ser más importante.

Los empleadores suelen buscar empleados que no sólo trabajen bien en equipo, sino que también sean diplomáticos, hábiles y capaces de entablar relaciones con sus compañeros. Haz saber a los empleadores que posees esos conocimientos, aunque los hayas adquirido en otros trabajos distintos de los indicados en la oferta. La capacidad de comunicación es importante en sectores como la biotecnología y el conocimiento de más de un idioma te puede otorgar cierta ventaja. El hecho de ser capaz de elaborar presentaciones convincentes también es importante, mientras que el conocimiento de los medios para hacerlas eficaces es un imperativo.

La capacidad de adaptación a un entorno cambiante es otra cualidad importante, ya que las empresas de biotecnología sufren constantes cambios a medida que evoluciona la tecnología. Indica ejemplos concretos sobre tu capacidad para adaptarte, pensar de forma clara y comprender bien lo que dice el cliente (accionista).

Demuestra que has puesto mucho esfuerzo personal y que estás orgulloso de tu trabajo, y que sabes cómo te perciben los demás. Trata de indicar cómo tus conocimientos, aptitudes y experiencia se han materializado en logros concretos. Prepárate para demostrar los conocimientos «intangibles» que posees mediante ejemplos claros, pero no temas mostrarte a tí mismo y tus conocimientos éticos.

Adaptación de P. Watson (2003), Transferable Skills for a Competitive Edge, *Nature Biotechnology,* 21: 211.

responsable de tus elecciones, y esas elecciones no sólo te afectan a ti mismo, sino también a los demás. Una persona inteligente conoce el mejor método para lograr un fin; una persona sensata sabe por qué fines merece la pena luchar.

PREGUNTAS Y ACTIVIDADES

Las respuestas se encuentran en el Apéndice 1.

1. ¿Cuáles son las dos principales tendencias del pensamiento ético y en qué se diferencian?
2. «El pasado mes de septiembre, una niña de California llamada Molly recibió un trasplante que le salvó la vida, procedente de la sangre del cordón umbilical de su hermano recién nacido, Adam. Molly, de ocho años, padecía un trastorno genético de la sangre que puede provocar la muerte denominado anemia de Fanconi. Sin embargo, lo que hace que este procedimiento haya sido poco habitual es que es posible que Adam no hubiera nacido si su hermana no estuviera enferma. Adam fue concebido mediante fecundación *in vitro* y los médicos seleccionaron este embrión en concreto de un grupo de embriones para

su implantación en el útero de su madre tras realizar pruebas y confirmar que no presentaría la enfermedad y que sería el más compatible con los tejidos de Molly.» ¿Ha sido ético este procedimiento? Adaptación de R. M. Kline (2001), Whose Blood Is It, Anyway? *Scientific American,* 284(4):42-49.

3. Crea un gráfico con una lista en una columna con todas las posibles interacciones que se te ocurra que pueden darse entre una planta GM y el ecosistema. En la segunda columna, introduce los posibles resultados, tanto positivos como negativos, para cada una de las interacciones anotadas.

4. Si un cultivo GM se ha creado para producir la hormona del crecimiento, ¿cuáles son algunos de los posibles dilemas y cuestiones éticos que se deberán prever?

5. ¿Existe alguna diferencia entre ser humano y persona? ¿Por qué?

6. Nunca hay suficiente dinero, ni siquiera por parte del gobierno, para apoyar todas las propuestas de investigación científica que se envían a los organismos de financiación. ¿Cómo se decide cuáles de las propuestas suponen un gasto innecesario de recursos financieros y cuáles pueden dar lugar a descubrimientos que podrían cambiar nuestras vidas para siempre? Cuando los científicos también deben decidir, ¿cómo tomar esa decisión sobre el modo en que se destinan los recursos procedentes de los impuestos? ¿Las cuestiones éticas deben formar parte de estas decisiones de financiación?

7. Supongamos que la terapia génica pudiera emplearse para reducir el colesterol y los niveles de grasas saturadas en la sangre y, de ese modo, las personas pudieran consumir alimentos fritos ricos en grasas con un riesgo muy bajo de sufrir cardiopatías. Sin embargo, para algunas personas, esta terapia génica podría resultar ineficaz y provocar un fallecimiento prematuro debido a cardiopatías. ¿Debería aprobarse esta terapia génica para su uso en humanos? Responde brevemente a esta pregunta describiendo cómo un bioético que aplica la teoría utilitarista analizaría esta situación, y compara este punto de vista con el de la teoría deontológica.

8. Cuando las empresas farmacéuticas descubren que un fármaco nuevo no actúa en el sujeto diana como se esperaba, ¿tienen la obligación legal de informar a otras empresas farmacéuticas?

9. Si se puede eliminar un alérgeno alimentario de los alimentos mediante una fuente de alimentos de una planta recombinada y un consumidor sufre daños porque el productor no quiso emplear esta fuente GM, ¿es posible que la empresa sea declarada culpable del daño creado?

10. Si se elimina una única célula de un embrión *in vitro* y se emplea para una futura regeneración de órganos pero el embrión no queda dañado y sigue desarrollándose con normalidad, ¿es ética la utlización del tejido embrionario humano?

Bibliografía y lecturas complementarias

Bouchie, A. (2006). Clinical Trial Data, to Disclose or Not to Disclose. *Nature Biotechnology,* 24(9): 1058–1060.

Fukuyama, F. (2002). *Our Posthuman Future: Consequences of the Biotechnology Revolution.* New York: Farrar, Straus & Giroux.

Gilbert, S. F., Tyler, A. L., and Zackin, B. J. (2005). *Bioethics and the New Embryology: Springboards for Debate.* Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Greely, H. T. (2005). Banning Genetic Discrimination. *New England Journal of Medicine,* 353(9): 865–867.

Kilner, J. F., Hook, C. C., and Uustal, D. B., eds. (2002). *Cutting-Edge Bioethics.* Grand Rapids, MI: William B. Eerdmans.

Levine, C. (2006). *Taking Sides: Clashing Views on Controversial Bioethical Issues,* 11/e. Dubuque, IA: McGraw-Hill/Duskin.

MacQueen, B. D. (2002). The Moral and Ethical Quandary of Embryonic Stem Cell Research. *Medical Science Monitor,* 8(5): ED1–4.

Miller, H. (2006). Why Spurning Food Biotech Has Become a Liability. *Nature Biotechnology,* 23(9): 1075–1077.

Morrison, A. R. (2003). Ethical Principles Guiding the Use of Animals in Research. *The American Biology Teacher,* 65(2): 105–108.

Stock, G. (2002). *Redesigning Humans: Our Inevitable Genetic Future.* New York: Houghton Mifflin.

Vastag, B. (2006). New Clinical Trials at FDA. *Nature Biotechnology,* 24(9): 1043.

En www.pearsonhighered.com/biotechnology podrás descargar objetivos de aprendizaje, resúmenes de los capítulos, enlaces para «mantenerte al día», glosarios, fichas de flash e imágenes (jpg) de las figuras.

Apéndice 1

Respuestas de las Preguntas y actividades

Capítulo 1

1-2. Actividad abierta; las respuestas son variables.

3. Biorremediación.

4. La farmacogenómica implica la prescripción de una estrategia de tratamiento basada en el perfil genético de un paciente, adaptando el medicamento a la genética del mismo. Se puede analizar una muestra de RNA o DNA de un paciente que presente un cuadro clínico para determinar si la expresión de sus genes coincide con el perfil genético de una enfermedad. Si es así, se puede plantear y diseñar un tratamiento específico de acuerdo con la estrategia de tratamiento que mejor se conozca, basándonos en el perfil genético del paciente.

5. Ningún producto puede salir de una empresa de biotecnología hasta que pase por rigurosos controles internos, conocidos como controles de calidad (QC). Gracias a la garantía de calidad (QA) todo lo que entra y sale de una empresa se controla para garantizar la seguridad y la calidad del producto y para poder rastrear el origen de posibles problemas identificados por las quejas, tal y como especifican los organismos reguladores como la Food and Drug Administration. Las medidas de QC y QA son importantes en todos los pasos dentro de la investigación, el desarrollo y la producción.

6-10. Actividad abierta; las respuestas son variables.

Capítulo 2

1. Los genes son secuencias de nucleótidos de DNA (a menudo desde 1.000 a cerca de 4.000 nucleótidos de largo) que proporcionan las instrucciones (código) para la síntesis de RNA. La mayoría de los genes producen moléculas de mRNA que codifican las proteínas, pero algunos genes producen RNA que no codifica proteínas. Los genes están contenidos en los cromosomas, espirales de DNA y proteínas empaquetadas de forma compacta. Los cromosomas permiten a la célula separar DNA de forma uniforme durante la división celular. Los cromosomas contienen múltiples genes y el número de genes de un cromosoma puede variar dependiendo del tamaño.

2. La cadena complementaria será una hebra antiparalela con la secuencia 3´-TCGGGGCTGAGATAAG-5´.

3. Los biólogos usan la frase «expresión génica» para hablar de la producción de mRNA a partir de un determinado gen. Desde el mRNA, las células traducen proteínas responsables de muchos aspectos de la estructura y funcionamiento celular.

4. Las reglas de Chargaff describen que el porcentaje de adeninas de un genoma es casi igual al porcentaje de timinas de un genoma. Asimismo, el porcentaje de guaninas y citosinas es igual aproximadamente. Esto es cierto porque el DNA se compone de pares de bases complementarias. Las adeninas de una hebra forman enlaces de hidrógeno con las timinas de la hebra opuesta. Las guaninas forman enlaces de hidrógeno con las citosinas. Según esto, si el DNA contiene aproximadamente un 13 por ciento de adeninas, entonces el DNA contendría aproximadamente un 13 por ciento de timinas. Combinadas, estas bases suponen cerca del 26 por cieto del DNA de las bacterias. Por tanto, el resto del DNA (74 por ciento) se compone de cantidades iguales de guaninas y citosinas, de forma que la guanina representaría el 37 por ciento del genoma aproximadamente y la citosina otro 37 por ciento.

5. El DNA es una molécula de doble hebra situada en el núcleo de las células. Cada hebra de DNA está hecha de bloques básicos denominados *nucleótidos* que se componen de un azúcar pentosa, un grupo fosfato y una base. El DNA es el material genético heredado de las células porque sus genes contienen instrucciones para la síntesis de las proteínas. El RNA se copia del DNA a través de un proceso denominado *transcripción*. El RNA es una molécula de una hebra, lo cual supone una diferencia estructural importante en comparación con el DNA. El RNA no sólo contiene nucleótidos que incluyen la base uracilo, que sustituye a la timina presente en el DNA, sino que también un azúcar pentosa diferente (ribosa) que el DNA (deoxirribosa). Se transcriben tres tipos principales de RNA: mRNA, tRNA y rRNA, y otras formas de RNA (snRNA y siRNA) intervienen en el empalme de mRNA y la regulación de la expresión génica respectivamente. Después de la transcripción, las moléculas de RNA se mueven al citoplasma, donde son necesarias para la síntesis de proteínas (traducción).

6. Siete codones, seis aminoácidos codificados.

Inicio Parada

5´-AGCACCAUGCCCCGAACCUCAAAGUGAAA CAAAAA-3´

La secuencia del aminoácido es metionina-prolina-arginina-treonina-serina-lisina. Recuerda que los mRNA

reales y sus proteínas codificadas son mucho más largas que esta secuencia de ejemplo y que los codones de parada no codifican aminoácidos.

7. a. Sólo la cadena de la parte inferior produce un mRNA funcional con un codón de inicio. Esta secuencia es: 5´-UUUAUGGGUUGGCCCGGGUCAUGAUU-3´. La secuencia de aminoácidos de un polipéptido producido a partir de esta secuencia es:

   Metionina – glicina – triptófano – prolina – glicina – serina

   b. RNA mensajero copiado de la cadena de la parte inferior del DNA con una T insertada entre las bases 10 y 11 es: 5´-UUUAUGGGAU**A**GGCCCGGGUCAUGAUU-3´. Esto dará como resultado una A (negrita) insertada en la secuencia transcrita de mRNA, que ahora crea un codón de parada (UAG) en el mRNA, que producirá un péptido truncado (acortado) de solo dos aminoácidos, metionina-glicina.
8. El RNA mensajero (mRNA) es una copia exacta de un gen. Actúa como un «mensajero» intermediario llevando el código genético en forma de codones, codificado por DNA, desde el núcleo hasta el citoplasma, donde se puede interpretar esta información para producir una proteína. Las moléculas de RNA ribosómico (rRNA) son componentes importantes de los ribosomas. Los ribosomas reconocen el mRNA, se unen a él y «leen» a lo largo del mRNA durante la traducción. Las moléculas de RNA de transferencia (tRNA) transportan los aminoácidos al ribosoma durante la síntesis de proteínas. Cada tRNA contiene un aminoácido y una secuencia anticodón que se une con secuencias complementarias de codones durante la traducción.
9. La *regulación génica* es un concepto amplio que se utiliza para describir las formas que tienen las células para controlar la expresión génica. La regulación génica es un aspecto esencial de las funciones de una célula. Las células utilizan muchos mecanismos complejos para regular la expresión génica. En este capítulo destacamos el control transcripcional como un proceso regulador. La regulación génica permite a las células controlar de forma ajustada la cantidad de RNA y las proteínas que producen en respuesta a las necesidades determinadas de la célula. En el caso del operón *lac*, la regulación génica permite a las células responder a los cambios del entorno.
10. Consulta la Figura 2.9.
11. Entre las mutaciones que afectan a la estructura y la función de las proteínas se incluyen las mutaciones sin sentido (afectan a un codón creando un codón de parada), las mutaciones con pérdida de sentido (cambian un codón para que codifique un aminoácido diferente con propiedades diferentes a las del aminoácido original que codificaba) y el desplazamiento de marco creadas por inserciones o supresiones. Las mutaciones silenciosas no tienen efecto en la estructura y funciones de las proteínas porque estas mutaciones de un codón no afectan al aminoácido codificado por el codón mutado.
12. Carbono’1.

Capítulo 3

1. La clonación de genes es la copia (clonación) de un gen o un fragmento de gen. Los términos *tecnología del DNA recombinante* e *ingeniería genética* a menudo se utilizan de manera indistinta. Técnicamente, la tecnología del DNA recombinante implica la combinación de DNA de diversas fuentes, mientras que la ingeniería genética implica la manipulación o alteración de la composición genética de un organismo. Por ejemplo, ligar un fragmento de DNA humano en un cromosoma bacteriano es un ejemplo de tecnología del DNA recombinante, y colocar este fragmento de DNA recombinante en una célula bacteriana para crear una bacteria se considera ingeniería genética.
2. La DNA ligasa se utiliza para formar enlaces fosfodiéster entre fragmentos de DNA durante los experimentos con DNA recombinante. Este es un paso importante en un experimento de clonación porque los enlaces de hidrógeno entre extremos cohesivos de los fragmentos de DNA no son lo suficientemente fuertes como para mantener unida una molécula de DNA recombinante de modo permanente. Las enzimas de restricción cortan el DNA en secuencias específicas de nucleótidos (secuencias de reconocimiento). Con frecuencia, el DNA se digiere con enzimas de restricción hasta dejarlo en fragmentos, lo cual es un paso importante en muchos experimentos de clonación, antes de utilizar DNA ligasa para unir los fragmentos.
3. La secuencia de un gen clonado de rata se podría utilizar para crear cebadores que se pudieran utilizar para amplificar DNA de células humanas en un esfuerzo por amplificar el gen complementario de los humanos.
   Si se tiene éxito en obtener productos de PCR de este experimento, éstos se podrían secuenciar y comparar con el gen de rata para buscar secuencias similares de nucleótidos (lo que sugiere que estos genes están relacionados).
   También, los productos de PCR podrían utilizarse como sondas en experimentos de rastreo de bibliotecas para encontrar el gen humano en toda su longitud o como sondas para el análisis *Northern blot* para determinar si el mRNA de este gen se expresa en tejidos humanos.
4. Consulta la Sección 3.2.
5. Aproximadamente 32.768 (2^{n-1}, donde n = número de ciclos).
6. Las bibliotecas genómicas contienen tanto intrones como exones, mientras que las bibliotecas de cDNA contienen copias de DNA transcritas inversamente a partir de mRNA expresado en un tejido dado. Se suelen preferir las bibliotecas de cDNA cuando se clonan genes que se expresan activamente. Cuando se busca un gen implicado en la obesidad, se puede construir y rastrear una biblioteca de cDNA a partir de adipocitos. La clonación de regiones reguladoras de genes, como por ejemplo las secuencias promotoras y las secuencias potenciadoras descritas en el Capítulo 2, puede lograrse con bibliotecas de DNA genómico porque contienen tanto exones como intrones.
7. Al buscar escribiendo la palabra «diabetes» aparece una lista de secuencias de genes relacionados con la diabetes mellitus insulino-dependiente y la no insulino-dependiente. Haciendo clic sobre cualquiera de los vínculos numerados y resaltados accederás a páginas que dan muchos detalles sobre cada gen. Si buscas con el número de acceso 114480 verás información sobre los genes del cáncer de mama familiar.
8. *Bam*HI sólo puede cortar este fragmento de DNA al comienzo de la secuencia y *Eco*RI sólo puede cortarlo al final de la misma. No hay sitios de corte para *Sma*I en esta secuencia. La búsqueda de todas las enzimas en la base de

datos revela aproximadamente 50 enzimas de restricción que pueden cortar esta secuencia. Esta demostración debería darte una idea de lo poderosos que pueden llegar a ser los programas informáticos en la ayuda que prestan a los biólogos moleculares que analizan secuencias de DNA.

9. Las respuestas correctas van apareciendo en la página web a medida que los estudiantes responden a las preguntas.
10. Actividad abierta; las respuestas son variables.
11. A los ddNTP les falta un oxígeno en el carbono 3'.
12. El genoma humano está compuesto por unos 3,1 mil millones de pares de bases. El genoma es aproximadamente el mismo en un 99,9 por ciento en personas de todas las nacionalidades y orígenes. Menos del 2 por ciento del genoma codifica para los genes. La gran mayoría de nuestro DNA no codifica proteínas. El genoma contiene aproximadamente de 20.000 a 25.000 genes codificadores de proteínas. Muchos genes humanos son capaces de fabricar más de una proteína. El cromosoma 1 es el que contiene el mayor número de genes. El cromosoma Y es el que contiene menos genes.

Capítulo 4

1. La genómica es la secuencia completa de nucleótidos del DNA de un organismo; la proteómica es el conjunto completo de proteínas de un organismo (incluyendo los dominios de las proteínas).
2. La tecnología de la evolución molecular dirigida se centra en las mutaciones de un gen concreto, seleccionando la mejor proteína funcional de ese gen, sin tener en cuenta los beneficios o peligros que pueda suponer para el organismo.
3. De los genes humanos, sólo de 25.000 a 35.000 producen proteínas, aproximadamente, reduciendo la búsqueda a una porción más pequeña del genoma.
4. Sólo los genes activos de una célula producen mRNA, origen del cDNA.
5. Se patenta el proceso para producir una proteína. Para obtener una patente, el producto debe ser eficaz.
6. Las primeras fracciones.
7. Las últimas en desprenderse de la columna.
8. Más selectiva.
9. MS, HPLC, cristalografía por rayos X.
10. En el procedimiento se ha perdido la proteína.

Capítulo 5

1. Existen varias diferencias estructurales importantes entre las células procariotas y eucariotas. Las bacterias y las arqueas son células procariotas. Las células eucariotas comprenden las células de plantas, animales, hongos y protozoos; todos estos organismos disponen de una estructura más compleja que la de las bacterias. Las células procariotas son más pequeñas que las eucariotas, no tienen núcleo, tienen relativamente pocos orgánulos y poseen pared celular. Las células procariotas poseen también genomas más pequeños que las eucarióticas (con frecuencia el genoma procarionte consiste en un único cromosoma circular). Las células procariotas desempeñan un papel muy importante en biotecnología. Las bacterias se usan como huéspedes en experimentos de clonación de genes, las proteínas recombinantes producidas por las bacterias son importantes para realizar investigaciones, y algunas de esas proteínas tienen aplicaciones en medicina. Los microbios se usan para fabricar comida y bebidas, y las bacterias sirven como fuente de antibióticos y de huéspedes para la producción de vacunas de subunidades.
2. Las levaduras son hongos eucariotas unicelulares, y las bacterias son células procariotas. La mayoría de los hongos tienen genomas más amplios que las bacterias. Las levaduras fermentables se usan tanto para hacer pan y diferentes tipos de masas como para producir cerveza y vino. La levadura desempeña un papel muy importante en el ámbito de la investigación. El sistema del doble híbrido en levadura es una técnica de gran utilidad para estudiar las interacciones de las proteínas. Dado que el genoma de la levadura contiene muchos genes similares a los de los humanos, los genetistas llevan a cabo estudios del genoma de éstas para obtener pistas sobre las funciones de muchos genes humanos.
3. Todas las vacunas están diseñadas con el objetivo de estimular el sistema inmunológico del receptor para que éste fabrique anticuerpos o células T activadas que reaccionen ante un patógeno, ya sea éste una bacteria o un virus. Mientras se fabrican los anticuerpos también se generan células de memoria inmunes como los linfocitos B que fabrican anticuerpos y los linfocitos B de memoria. Por medio de la fabricación de anticuerpos y células de memoria la vacuna dota al receptor de una protección contra un patógeno en el caso de que dicho receptor se vea expuesto a éste. Los tres tipos de vacunas más importantes son los siguientes: las vacunas de subunidades, que consisten en moléculas procedentes del patógeno (a menudo proteínas que se expresan gracias a la tecnología de DNA recombinante), las vacunas atenuadas, que se hacen a partir de patógenos vivos que han sido debilitados para prevenir su duplicado, y las vacunas inactivadas, que se preparan matando en primer lugar al patógeno e inyectando posteriormente los microbios muertos o inactivos al receptor.
4. Los microbios anaerobios son aquellos microorganismos que no necesitan oxígeno para transformar el azúcar en energía (en forma de ATP). En condiciones anaerobias, algunos microbios usan la fermentación del ácido láctico, otros a su vez usan la fermentación del alcohol (etanol) para obtener energía. El ácido láctico y el etanol son productos de desecho procedentes de la fermentación anaerobia que son elementos importantes de muchos productos. El ácido láctico está presente en el queso y el yogur, y el etanol en bebidas alcohólicas como el vino y la cerveza.
5. Actividad abierta; las respuestas son variables.
6. El estudio de los genomas microbianos puede ayudar a los científicos de muchas formas diferentes. La secuenciación de los genomas puede revelar nuevos genes, incluidos genes que pueden usarse en biotecnología (como los genes que codifican nuevas enzimas con propiedades notables). Los científicos pueden estudiar los genes de los patógenos causantes de enfermedades (incluyendo los posibles agentes del terrorismo biológico) y usar posteriormente estos conocimientos para contribuir en la lucha contra las enfermedades. El estudio de los genomas puede ayudar a los científicos a comprender mejor el

metabolismo bacteriano, la conexión de las cepas bacterianas y la transferencia horizontal de genes (transferencia de genes entre especies).

7. Actividad abierta; las respuestas son variables.
8. No existe una sola respuesta a esta pregunta, pero algunas personas dan por supuesto que el que los adolescentes sean vacunados con Gardasil quiere decir que éstos mantienen relaciones sexuales, lo cual puede ser algo habitual para algunos de ellos, pero no es así en todos los casos.
9. Las proteínas de fusión se generan por medio de la inserción de un gen clonado para producir una proteína de interés en un vector de expresión que permita la producción de una proteína fusionada a una proteína reportera o marcadora como la proteína de fluorescencia verde o la proteína de unión a maltosa. Esta proteína fusionada se puede parar posteriormente por una columna de afinidad, que a su vez se unirá a la porción marcada de la proteína de fusión y permitirá que la proteína de fusión pueda ser aislada a partir de un extracto bacteriano de proteínas.
10. Véase Tabla 5.1.

Capítulo 6

1. La aprobación de cultivos alimentarios producidos de esta forma se debe obtener de forma diferente a las agencias reguladoras. Se han aprobado cultivos manipulados genéticamente que se destinan a la alimentación de animales o que no se ingieren, pero no se pueden aprobar cultivos manipulados genéticamente para el consumo humano sin unas pruebas exhaustivas que demuestren la ausencia de respuesta alérgica en humanos.
2. Las innovaciones de la biotecnología agrícola pueden reducir la necesidad de utilizar pesticidas porque las plantas tienen la capacidad de protegerse de determinadas plagas y enfermedades. No sólo reduce el uso de agua, la erosión de la tierra y las emisiones de gases de efecto invernadero mediante unas prácticas agrícolas más sostenibles, sino que mejora la productividad de los campos de cultivo marginales, especialmente donde están disminuyendo las zonas de plantación alrededor del mundo.
3. Entre los beneficios de la biotecnología agrícola se encuentran la reducción de las características no deseadas, como las grasas saturadas de los aceites alimentarios, la eliminación de alérgenos, un aumento de los nutrientes que ayudan a reducir el riesgo de enfermedades crónicas y un mejor suministro de los nutrientes apropiados como la vitamina A en los cultivos de consumo común.
4. Con la biotecnología, los investigadores pueden identificar características genéticas específicas, aislarlas y transferirlas a plantas de cultivo de utilidad. Esta técnica es más precisa y eficiente que el tradicional cruce y puede aumentar la producción de alimentos a niveles mayores.
5. Los cultivos producidos mediante nuestros métodos biotecnológicos actuales no precisan de un etiquetado especial en Estados Unidos (en el momento de esta publicación).
6. Aunque se han reconocido algunas pruebas de transferencia a otras plantas e insectos, no se ha demostrado un daño a largo plazo para los insectos con características beneficiosas. De hecho, la ingeniería genética ha producido más ejemplos de «gestión integrada de la plaga» en un plazo de tiempo menor que nunca.
7. Los productos mejorados mediante la biotecnología sólo llevan disponibles unos cinco años. No se requieren estudios a largo plazo si el producto génico ya existe en el medioambiente en otro organismo. De encontrarse alguna característica perjudicial, se regularía de forma conveniente.
8. Las plantas monocotiledóneas no aceptan el plásmido Ti, por lo que precisan de otros métodos para realizar la transfección de genes.
9. El plasma germinal se desarrolló y donó de forma gratuita, aunque las batallas legales sobre los derechos de propiedad intelectual han retrasado su introducción en el mercado.
10. La regulación de muchos genes hará mucho más difícil el desarrollo de la resistencia a insectos.

Capítulo 7

1. Porque proporcionan la capacidad de división continua.
2. La respuesta tipo HAMA se produce porque los ratones y los humanos a menudo construyen distintas estructuras de anticuerpos para el mismo antígeno, lo que puede provocar una respuesta de rechazo en humanos.
3. Injertan células del bazo productoras de anticuerpos en ratones cuyo sistema inmune no funciona (como los humanos con inmunodeficiencia combinada grave) y comienzan a producir anticuerpos semejantes a los humanos.
4. El emparejamiento complementario desactiva el mRNA producido de forma natural.
5. Los genes humanos para determinadas enfermedades sustituyen los *knock-out* y los fármacos potenciales van dirigidos a estos genes humanos insertados, imitando la enfermedad humana.
6. El calor actúa como un inductor de los genes transferidos que se localizan con el cáncer.
7. Porque sólo se tarda cinco días en determinar la toxicidad y efectividad contra los transgenes humanos debido a su rápido ritmo de desarrollo.
8. Los anticuerpos monoclales son específicos contra un antígeno y eficaces en pequeñas cantidades.
9. Los investigadores deben probar con animales las cantidades utilizadas antes de la investigación, utilizar alternativas cuando sea posible y asegurarse de que se utilizan la mayoría de los tratamientos humanos.
10. El DNA está vinculado a la superficie de las células del esperma, de forma que se transportará al óvulo.

Capítulo 8

1. Un locus polimórfico de DNA es una secuencia de DNA que tiene muchas alternativas posibles (por ejemplo, diferentes números de repeticiones múltiples de conjuntos de nucleótidos en tándem, tales como GC, GC, GC…).
2. Las secuencias poliformicas de DNA estudiadas en la huella no tienen efectos conocidos. Normalmente se producen en regiones de DNA que no se traducen en proteínas.

3. La mitad deberían aparecer en el análisis del padre; la mitad deberían aparecer en el análisis de la madre.
4. La clasificación sanguínea resulta más barata y sencilla de realizar que huellas de DNA.
5. La heparina inhibe determinadas enzimas utilizadas en RFLP y podría crear un resultado incorrecto, produciendo un patrón similar de forma artificial.
6. La DNasa es una enzima importante a eliminar, de forma que no destruirá el DNA que se desea caracterizar.
7. La huella de DNA de *cavernet sauvignon* contenía bandas de los dos padres.
8. El DNA en los puntos o ranuras de hibridación sólo necesita hibridarse con la sonda; no se necesita digestión de DNA, electroforesis o hibridación *Southern blotting.*
9. Puede desbordarse antes de la electroforesis y dar un falso positivo a un acusado.
10. Cada quinto carril contiene DNA de referencia para permitir la comparación con los carriles anteriores (cinco hacia atrás) para determinar si se ha producido el desplazamiento.

Capítulo 9

1. Actividad abierta; las respuestas dependen de los procedimientos descritos.
2. La adición de fertilizantes como el carbono, nitrógeno, fósforo y potasio es a menudo un paso importante en muchos procedimientos de la biorremediación. La fertilización, también llamada enriquecimiento de nutrientes, estimula el crecimiento y la actividad (metabolismo) de los microorganismos en el medio ambiente. Estos microorganismos, normalmente bacterias, se dividen también de forma más rápida para crear más bacterias. Al estimular el metabolismo de las bacterias y aumentar su número en las zonas contaminadas, los contaminantes se suelen degradar más rápida. El hecho de añadir oxígeno a un lugar contaminado es eficaz cuando los microorganismos implicados en la limpieza dependen de la biodegradación aeróbica.
3. Muchas zonas antiguamente contaminadas de Estados Unidos se han vuelto a desarrollar para usos industriales y residenciales. A veces en estas zonas se construyen casas cuyos precios son más bajos comparados con los de otras casas; sin embargo, no todos los Estados requieren que los constructores revelen la historia de la tierra a los futuros compradores. Un problema obvio es la preocupación de que la zona podría no estar totalmente limpia. Si las casas dependen de aguas subterráneas para el suministro de agua potable, el agua se analiza regularmente para controlar los contaminantes químicos. Sin embargo, esto puede resultar problemático porque incluso los rastros de cantidades de algunos materiales químicos pueden no detectarse, y los efectos en la salud de estas sustancias químicas no se conocen totalmente. Del mismo modo, las sustancias químicas que quedan en el terreno pueden afectar también a las actividades de los residentes, como las de jugar o plantar en el suelo del jardín. Un problema más importante con la reurbanización de zonas biorremediadas para usos residenciales es que podría llevar muchos años (o generaciones de familias) determinar si los residentes están sufriendo efectos en la salud provocados por las sustancias químicas que quedan en el lugar. Incluso si los residentes sufren algunos problemas de salud, es a menudo muy difícil determinar si éstos están causados por los contaminantes químicos del lugar.
4. Un enfoque podría incluir el estudio de estructuras que contienen plomo para identificar si las bacterias están creciendo en ellas. Por ejemplo, se pueden estudiar las tuberías de plomo que se quedan en el medio ambiente y, con el tiempo, determinar si las bacterias están creciendo en estas tuberías. El crecimiento de las bacterias en una superficie con plomo podría ser un indicador de que estas bacterias han desarrollado una forma de evitar los efectos tóxicos del plomo. Esto podría ser un signo de que estas células pueden ser capaces de degradar el plomo. En ese momento, se podrían aislar estas bacterias, y los experimentos que utilizan los microcosmos podrían probar si estas células degradan el plomo.
5. Actividad abierta; las respuestas son variables.
6. Actividad abierta; las respuestas son variables.
7. Actividad abierta; las respuestas son variables.
8. Actividad abierta; las respuestas son variables.
9. Actividad abierta; las respuestas son variables, aunque hasta la fecha no se ha informado de ninguna actividad significativa de biorremediación que no sea la de la biorremediación por medio de microbios nativos.
10. Actividad abierta; las respuestas son variables.

Capítulo 10

1. Como se trató en el Capítulo 8, los animales transgénicos contienen genes de otra fuente. Los transgenes pueden provenir de especies relacionadas (por ejemplo, introducir el gen del salmón para la hormona de crecimiento en la trucha) o de especies muy diferentes (por ejemplo, introducir el gen de la *luciferasa [lux]* de bacterias marinas bioluminiscentes o luciérnagas en el salmón). Se pueden crear peces transgénicos usando diferentes técnicas, pero una de las técnicas más destacadas consiste en realizar microinyecciones del transgén en embriones en fase de blastocisto para permitir la incorporación del transgén en tejidos embrionarios. Los peces poliploides como los triploides, que contienen tres conjuntos completos de cromosomas, a menudo están creados mediante tratamiento químico o eléctrico de esperma u óvulos para producir gametos diploides que se puedan utilizar para fertilizar gametos haploides.
2. Actividad abierta; las respuestas son variables.
3. Entre las ventajas encontramos el suministro de fuentes de alimentación, la mejora de las poblaciones de peces y mariscos, la creación de industrias agrícolas en zonas no costeras del mundo que carecen de industrias pesqueras o de alimentación marina y el suministro de peces para la pesca de recreo. Entre los problemas se pueden citar que algunas especies no son aptas para la acuicultura o son demasiado caras de criar, la existencia de enfermedades que pueden diezmar las reservas de peces dada la similitud genética de la mayoría de los peces de cultivo, los desechos de las piscifactorías que generan problemas de contaminación y la disminución del potencial genético de las especies nativas que se produce cuando los peces de

piscifactoría escapan y se introducen en las poblaciones de peces del medioambiente.

4. Actividad abierta; las respuestas son variables.

5. Actividad abierta; las respuestas son variables. Sin embargo, las respuestas deberían mencionar que los organismos que crecen bajo unas condiciones medioambientales [Pág. A-6] únicas o extremas (como presión, calor y profundidades oceánicas) se encuentran entre los más estudiados para la identificación de moléculas únicas que pueden resultar potencialmente valiosas. Por ejemplo, los mejillones, que se adhieren con fuerza a las estructuras para resistir al vaivén constante de las olas, producen unas moléculas únicas en sus fibras bisales que proporcionan fuerza adhesiva.

6. Consulta la Tabla 10.1.

7. Muchos biotecnólogos acuícolas creen que la biotecnología desempeñará un papel importante en la mejora de la población de peces y del marisco en el futuro. Una forma obvia de conseguir esto consiste en utilizar los métodos de biorremediación para detectar y limpiar la contaminación medioambiental. Otro de los métodos puede consistir en utilizar la biotecnología para aprender acerca de los patógenos que provocan enfermedades en los organismos acuáticos y desarrollar formas de prevenir o tratar dichas enfermedades. Los métodos transgénicos y poliploides se pueden utilizar para continuar produciendo organismos acuáticos con resistencia mejorada a la enfermedad. Además, la acuicultura se puede utilizar para cultivar grandes cantidades de especies que se pueden almacenar para aumentar las poblaciones menguantes de organismos acuáticos.

8. Las agencias federales estadounidenses como la FDA y la USDA pensaban que no era necesario regular los GloFish porque no representaban una amenaza para la salud pública, puesto que los peces tropicales no se usan para la alimentación. El servicio estadounidense U.S. Fish and Wildlife Service determinó que el pez representaba una pequeña amenaza para el medioambiente porque se han vendido ejemplares de pez cebra no modificado en Estados Unidos y se han liberado al medioambiente con consecuencias desconocidas. Muchos grupos a favor de los derechos animales y otros grupos han protestado con fuerza contra el desarrollo del GloFish, principalmente porque entienden que se trata de un abuso de la ingeniería genética para crear una especie transgénica sólo para disfrutar de él como mascota. Asimismo, han surgido preocupaciones acerca de la liberación potencial de esta mascota manipulada genéticamente al medioambiente. Algunas personas argumentan también que el GloFish ha supuesto un precedente para el desarrollo no regulado de otras mascotas y animales manipulados genéticamente que pueden suponer una amenaza para el medioambiente. Asimismo, los grupos contrarios a la biotecnología citan esto como un ejemplo para despertar el escepticismo de la opinión pública sobre la biotecnología porque si el GloFish puede no regularse, ¿qué otros campos de la biotecnología pueden estar sin regular?

9. Las biopelículas son acumulaciones de organismos vivos como bacterias que cubren una superficie. Por ejemplo, las biopelículas se producen en los dientes, implantes de corazón y las vías intravenosas. En entornos marinos, las algas y los moluscos que crecen en los cascos de los barcos son un ejemplo de biopelículas. Muchos organismos acuáticos combaten las biopelículas mediante la producción de compuestos que matan o inhiben el crecimiento de los microbios de biopelícula. Por consiguiente, los científicos están interesados en identificar estos compuestos, de forma que se puedan usar en aplicaciones comerciales para combatir las biopelículas.

10. La prueba LAL se basa en enzimas de las células sanguíneas del cangrejo de herradura (*Limulus polyphemus*) para detectar endotoxinas producidas por microbios tóxicos. La prueba LAL se utiliza para comprobar la esterilidad de instrumentos como los dispositivos médicos.

Capítulo 11

1. La amniocentesis y la biopsia coriónica son formas de obtener muestras de tejido de fetos en desarrollo. Las células fetales o el tejido adulto (normalmente glóbulos blancos y células de la piel, mejillas o cabello) se pueden estudiar mediante análisis del cariotipo para buscar anomalías en el número de cromosomas y en su estructura. Se pueden estudiar las técnicas moleculares como el análisis RFLP y las pruebas ASO para detectar genes defectuosos de las células humanas. En el futuro, los *microarrays* de DNA (chips de genes) desempeñarán un mayor papel en las pruebas genéticas, permitiendo el análisis de miles de genes al mismo tiempo.

2. El objetivo de la terapia génica consiste en administrar genes terapéuticos a los humanos para tratar o curar enfermedades. La terapia génica *ex vivo* consiste en extraer células de un paciente e insertar uno o varios genes en estas células para después inyectarlas o implantarlas en el paciente. El tratamiento de SCID es un ejemplo de terapia génica *ex vivo*. La terapia génica *in vivo* se realiza dentro del organismo mediante la administración directa de genes en el organismo (por ejemplo, el tratamiento de la fibrosis quística mediante sprays nasales). Algunas de las técnicas de administración de genes terapéuticos consisten en utilizar virus como vectores para la terapia génica, inyectar DNA desnudo y utilizar liposomas para administrar genes. Los científicos que trabajan con terapia génica se enfrentan a muchos retos, entre los que se incluyen garantizar la seguridad en la administración de genes (especialmente cuando se usan vectores virales), acertar con el gen terapéutico en las células y tejidos correctos y encontrar formas de obtener la expresión suficiente de un gen terapéutico para curar la enfermedad.

3. Las células madre embrionarias (ESC) se aíslan a partir de embriones tempranos en la fase de blastocisto. Los blastocistos normalmente proceden de los embriones sobrantes de los procedimientos de fertilización *in vitro*. Para aislar y cultivar las ESC, se disecciona la masa celular interna del blastocisto y estas células se cultivan en una placa de cultivo de tejido. Por el contrario, las células madre derivadas de adultos (ASC) se aíslan a partir de los tejidos adultos maduros. Estas células se encuentran en pequeñas cantidades en muchos tejidos del organismo como los tejidos musculares y óseos. Se extrae una pequeña muestra (biopsia) de tejido adulto (por ejemplo, se puede usar una aguja para extraer una biopsia de células madre de médula ósea de adulto) y después se pueden cultivar las ASC en un cultivo. Al tratar ESC o ASC con diferentes factores de crecimiento, los científicos

pueden estimular las células madre para diferenciarlas en diferentes tipos de células del organismo. Los biólogos que trabajan con células madre ven muchas formas de aplicar las células madre para tratar enfermedades. Las células madre se podrían implantar en el organismo para sustituir el tejido dañado, podrían ser buenos vectores para administrar genes terapéuticos y se podrían utilizar para cultivar tejidos en órganos para después trasplantarlos a los humanos.

4. Consulta la Tabla 11.3 para comparar la clonación reproductiva y la clonación terapéutica.
5. La farmacogenómica es la medicina personalizada que se crea mediante el análisis de la genética de una persona y la designación de un fármaco o estrategia de tratamiento específica para una persona determinada en función de los genes que intervienen en las circunstancias médicas de esa persona.
6. El Proyecto del Genoma Humano revelará la ubicación de todos los genes humanos, incluidos los que intervienen en los procesos normales y de enfermedad. La identificación de estos genes es un primer paso importante hacia el entendimiento del funcionamiento y desarrollo de ciertos genes. Identificar genes enfermos permitirá a los científicos desarrollar pruebas que se puedan usar para controlar individuos ante la posibilidad de que herede una determinada enfermedad. A medida que sabemos más acerca de los distintos genes y las proteínas que codifican, se espera que cada vez haya tratamientos médicos más específicos mediante el diseño de fármacos que afecten a proteínas y genes específicos que intervienen en enfermedades genéticas y enfermedades con base genética. Entre estos tratamientos se pueden incluir también las estrategias de terapia génica. La comprensión de la forma en que los genes humanos están regulados y afectados por el estrés y los factores medioambientales nos permitirá conocer mejor las medidas preventivas que se pueden tomar para minimizar las enfermedades genéticas.
7. Actividad abierta; las respuestas son variables.
8. El HR 810 se diseñó para rebajar las actuales restricciones a la hora de utilizar fondos de la administración federal estadounidense para producir embriones y generar células madre embrionarias. El proyecto de ley pretendía que fuera posible recibir fondos de la administración federal para trabajar con células madre embrionarias diferenciadas a partir de embriones humanos donados por clínicas de fertilización *in vitro*, embriones creados con objeto de tratamientos de fertilidad y embriones sobrantes que de lo contrario se descartarían.
9. Las tecnologías RNA antisentido y RNAi son dos técnicas comunes de silenciamiento de genes que se podrían utilizar para dejar sin efecto a un gen que interviene en una enfermedad. Consulta el capítulo para obtener una descripción de cada técnica.
10. La medicina regenerativa consiste en crear células, tejidos y órganos que se pueden utilizar para reparar o sustituir los tejidos dañados o muertos de una persona.
11. Los SNP, o polimorfismos de nucleótido simple, son cambios de una base en la secuencia de DNA responsables de las sutiles diferencias genéticas existentes entre los individuos humanos. Cuando se producen en secuencias de genes codificadores de proteínas, los SNP pueden representar mutaciones que afecten al funcionamiento de los genes y provoquen enfermedades. Por consiguiente, los SNP se pueden detectar como una forma de identificar cambios genéticos relacionados con la enfermedad.

Capítulo 12

1. FDA
2. EPA
3. EPA
4. FDA, EPA, USDA
5. Para que la USPTO emita una patente, el producto debe tener utilidad, no resultar obvio y ser funcional.
6. Las aprobaciones que antes tardaban cuatro años ahora pueden producirse en uno.
7. Europa, donde cada paso del proceso de purificación suele estar patentado.
8. Las empresas deberían evaluar cada aspecto de la producción, entre los que se incluyen el personal, los procedimientos, el equipamiento, los materiales, el mantenimiento de registros, las auditorías y la formación.
9. Los productos patentados deben tener utilidad y no resultar obvios. Los EST no son productos y sólo funcionan para identificar una ubicación. No son aptos para patentar.
10. La EMEA no tiene conocimiento de un fármaco hasta que se presenta para aprobarse; por tanto, un fármaco requerirá menos tiempo para aprobarse.

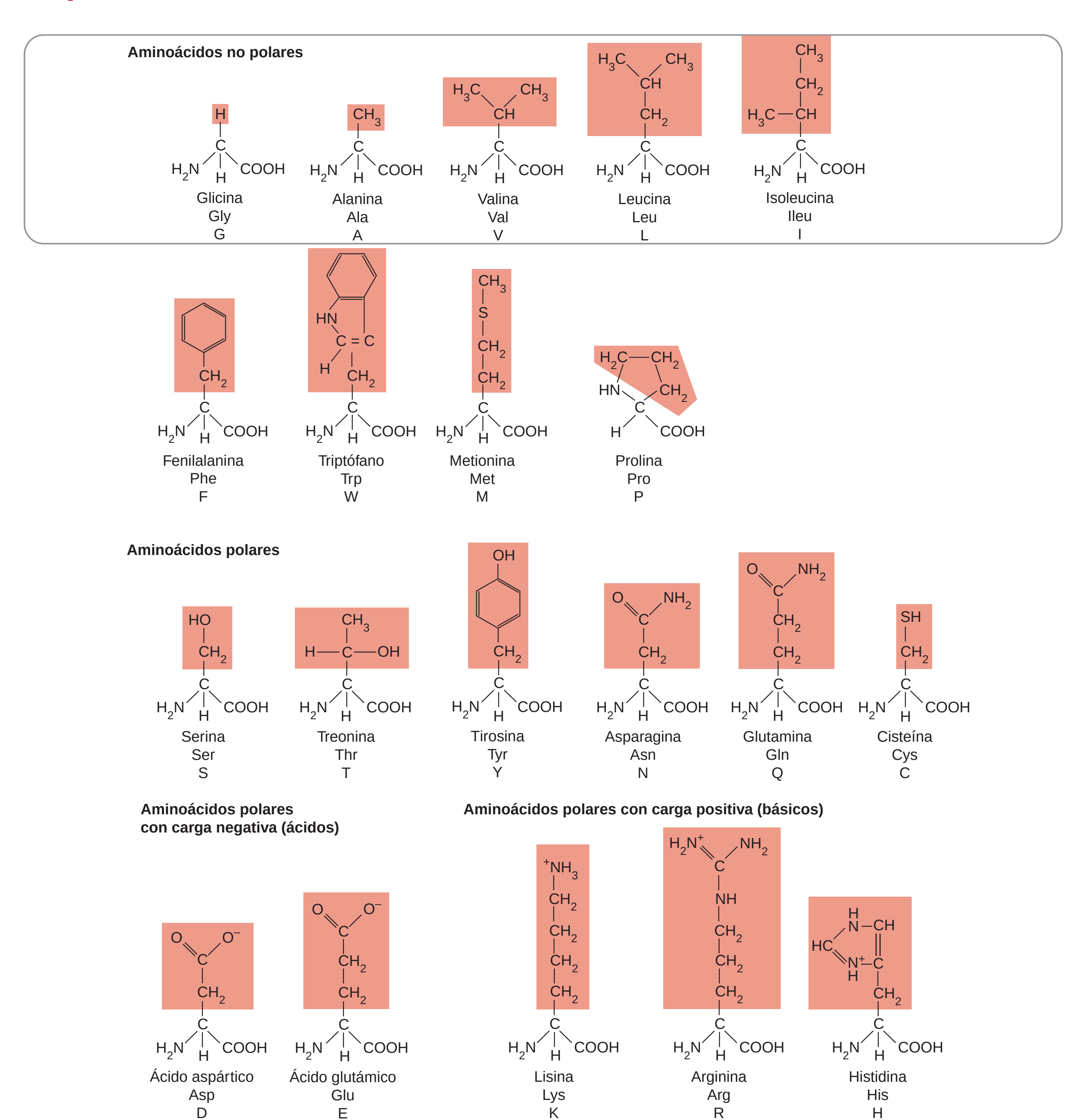
Capítulo 13

1. Método utilitario y método deontológico (Kantiano). El utilitarismo intenta ponderar todos los resultados posibles y producir el máximo beneficio para la mayoría, y el resultado final de una consecuencia justifica el medio. El método deontológico comienza con determinados absolutos que no se pueden cruzar, sin importar cuánto beneficio se pueda conseguir para mantener un resultado éticamente correcto.
2. La mayoría de los bioéticos concluyeron que era éticamente apropiado porque Adam no resultó dañado físicamente por proporcionarle sangre del cordón umbilical a su hermana Molly. Además, no había pruebas que indicaran que los padres de Adam le trataran mal o que hubiera sido concebido sólo para salvar a su hermana. Sin embargo, ¿qué opinas de los padres que seleccionan los descendientes que quieren, usando la genética (un proceso que resulta común al realizar la fertilización *in vitro*)?
3. Actividad abierta; las respuestas son variables.
4. Actividad abierta; las respuestas son variables.
5. Actividad abierta; las respuestas son variables.
6. Actividad abierta; las respuestas son variables.
7. Un bioético que sigue una aproximación deontológica propondría una respuesta «el máximo beneficio para la mayoría». Si esta forma de terapia génica puede ayudar a reducir los niveles de colesterol y grasas saturadas en los humanos y permitir a una mayoría de personas disfrutar

de los alimentos grasos, entonces resulta correcto desde un punto de vista ético asumir el riesgo de que un número un poco más pequeño de personas puedan morir de forma prematura a causa de esta terapia.

8. Desde una perspectiva ética se podría argumentar que para el beneficio general de mejorar la salud, las compañías farmacéuticas deberían compartir la información para ayudar a facilitar el desarrollo de fármacos que curan. No obstante, no existe un imperativo legal que obligue a las compañías a hacerlo.
9. Actividad abierta; las respuestas son variables.
10. Actividad abierta; las respuestas son variables.

Apéndice 2



Los 20 aminoácidos de las proteínas
Se pueden utilizar hasta 20 aminoácidos diferentes para sintetizar una proteína. Cada aminoácido tiene una estructura común, pero las cadenas laterales (sombreadas) varían de aminoácido a aminoácido. Estas cadenas laterales determinan las propiedades químicas de los aminoácidos. Ten presente que algunos aminoácidos son no polares, mientras que otros son polares, y también que existen aminoácidos con carga positiva y negativa. Asimismo, se muestra tanto el código de tres letras como el de una de cada aminoácido.

Créditos

Créditos fotográficos

Capítulo 1: Portada: ©Yorgas Nikas/Photo Researchers. **1.1(a):** Doebley, *J Plant Cell*, 2005 Nov; 17(11): 2859–72. Cortesía de John Doebley, University of Wisconsin. **1.1(b):** Richard White, Children's Hospital Boston.**1.4(b):** SIU BioMed/Custom Medical Stock Photo. **1.5:** Noah Berger/AP Images. **1.6:** Roslin Institutes/PA Photos Ltd. **1.7:** Orchid Cellmark. **1.8:** Ken Graham/Accent Alaska.com.**1.9:** AP Images. **1.12:** Anthony Canamucio. **1.15:** Jim Reme, Monmouth University. **UN1:** ScienceCartoonsPlus.com.

Capítulo 2: Portada: Robert Silvers, www.photomosaic.com. **2.7:** David Adler, University of Washington Department of Pathology. **2.20(a):** Andrew Syred/Stone/Getty Images. **2.20(b):** National Institutes of Health. **2.21:** David Cooney

Capítulo 3: Portada: Michael Palladino. **3.3(a):** Gopal Murti/Photo Researchers. **3.3(b):** Michael Palladino. **3.4(b):** Robley Williams. **3.11(b):** Michael Palladino. **3.13(c):** Registered Trademark of Pfizer Inc. Reproducido con autorización. **3.14 (part 2):** P.M. Lansdorp, Terry Fox Laboratory, B.C. Cancer Research Center, U.B.C, Vancouver, Canada. **3.16(b):** Michael Palladino. **3.18 (part 1):** Alfred Pasieka/SPL/Photo Researchers. **3.18 (part 2):** GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array. Cortesía de Affymetrix.

Capítulo 4: Portada: Michael Palladino. **4.4:** Garman, S.C., Sechi, S., Kinet, J.P., Jardetzky, T.S.: The Analysis of the Human High Affinity Ige Receptor Fc(Epsilon) Ri(Alpha) de Multiple Crystal Forms *J.Mol.Biol.* 311 pp. 1049 (2001). **4.15 (partes 1 y 2):** Amersham Biosciences.

Capítulo 5: Portada: Gopal Murti/Photo Researchers. **5.1(a):** Scimat/Photo Researchers. **5.1(b):** Manfred Kage/Peter Arnold. **5.1(c):** CNRI/Photo Researchers. **5.2(a):** John Durham/Photo Researchers. **5.2(b):** Kevin Schafer/Corbis. **5.3(b):** Catherine Pongratz y Charlotte K. Mulvihill, Biotechnology Program, Oklahoma City Community College. ASM Microbelibrary.org. **5.6(a) and (b):** Ken Lucas/Biological Photo Services. **5.8(a):** Michael Palladino. **5.18(a):** A. Dowsett/Photo Researchers. **5.18(b):** T.H. Chen y S. S. Elberg, *Inf. Imm* 15:972–977, Figura 4, con autorización de ASM. **5.20:** AP Images.

Capítulo 6: Portada: Bill Thieman. **6.1:** U.S. Department of Agriculture. **6.5(a):** Bio-Rad Laboratories. **6.9(a):** George Chapman/Visuals Unlimited. **6.9(b):** E. R. Degginger/Photo Researchers**. 6.11:** Yann Layma/Stone/Getty Images. **6.13:** Reuters NewMedia Inc./Corbis.

Capítulo 7: Portada: Keith Weller/ARS/USDA. **7.3(a):** Solnica-Krezel Lab, Vanderbilt University. **7.3(b):** Dorling Kindersley Media Library. **7.6(a):** OptiCell, fabricado por BioCrystal, Ltd. **7.8:** Ben Margot/AP Images. **7.11:** Inga Spence/Visuals Unlimited.

Capítulo 8: Portada: Steve Miller/AP Images. **8.6:** Oxford University Press/United Kingdom. **8.8:** Orchid Cellmark. **8.9:** Oxford University Press/United Kingdom. **8.12:** Seminis. **8.13:** Guglich, E.A., Wilson, P.J., White, B.N., 1993, Application of DNA Fingerprinting to Enforcement of Hunting Regulations in Ontario, *Journal of Forensic Sciences*, figura 5, p.56. © ASTM International.

Capítulo 9: Portada: Owen Franken/Corbis. **9.4:** Jennifer Bower y Ralph Mitchell, Laboratory of Applied Microbiology, Division of Applied Sciences, Harvard University. **9.9:** Ashbury Park Press. **9.10:** Michael Palladino. **9.12:** Kunen, J. G. y Jetten, M.S.M (2001) Extra ordinary anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *ASM News* 67: Figura, p 458. **9.15:** Laboratory of Derek Lovley, University of Massachusetts Amherst. **9.17(a):** Jack Smith/AP Images. **9.17(b):** Vince Streano/Corbis. **9.18:** Exxon Mobil. **9.19:** Science VU/VisualsUnlimited.

Capítulo 10: Portada: Rick Price/Corbis. **10.1:** Peggy Greb/ARS/USDA. **10.2 (parte 4):** Michael Palladino. **10.3(a):** Kevin Fitzsimmons, University of Arizona. **10.3(b):** China Tourism Press/The Image Bank. **10.3(c):** Paul A. Souders/Corbis. **10.3(d):** Earl & Nazima Kowall/Corbis. **10.4(a):** Kevin Fitzsimmons, University of Arizona. **10.4(b):** G. C. Mair/www.fishgen.com. **10.7(a):** Dwight Smith/Shutterstock. **10.7(b):** Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science*. 2001 May 25;292(5521):1552–5. Reproducido con autorización de the American Association for the Advancement of Science. **10.7(c):** R. E. Mandrell y A. H. Bates; USDA/Agricultural Research Service, Albany, CA. **10.8:** M. Palladino y G. Sarinsky. **10.9:** Choy Hew, National University of Singapore, y Garth Fletcher, Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland. **10.12(a y b):** A.C. Duxbury, y A.B. Duxbury, 1997, *Introduction to the World's Oceans*, quinta edición, William C. Brown Publishing Co., Fig. 17.1, p. 475. Reproducido con

autorización of The McGraw-Hill Companies. **10.13:** Herbert Waite, Department of Molecular, Cellular, and Developmental Biology, University of California, Santa Barbara. **10.14:** Anne Komarisky. **10.15(a):** Center for Great Lakes and Aquatic Sciences. **10.15(b):** Betty Sederquist/Visuals Unlimited. **10.16:** Deborah L. Santavy, Gulf Ecology Division, US Environmental Protection Agency.

Capítulo 11: Portada: Spencer Jones/Taxi (Text overlay: Marlene J. Viola). **11.1:** John Sholtis, Amgen Inc. **11.2 (parte 2):** March of Dimes Birth Defects Foundation. **11.3(a,b):** American Cancer Society. **11.3(c):** Lisa G. Shaffer, Health Research and Education Center, Washington State University, Spokane. **11.9 (parte 2):** Robert S. Langer y Kenneth J. Germeshausen. **11.13:** Zhang, G., Budker V., Williams P., Subbotin V., Wolff J. A. Efficient Expression of Naked DNA Delivered Interaarterially to Limb Muscles of Nonhuman Primates, *Hum Gene Ther.* 2001 Mar I; 12(4): 42738. **11.18:** Bill Ling/Dorling Kindersley Media Library. **11.20(a):** Becton, Dickinson and Company. **11.20(b):** Copyright © BBC. **11.22 (parte 2):** Liz Sanders, Mississippi Fertility Institute. **11.23:** Shinya Yamanaka, HO/AP Images. **11.25 (parte 2):** Fotografía de Anne Bower y Manfred Baetscher, Transgenic Core Laboratory, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon.

Capítulo 12: Portada: Bettmann/Corbis. **12.1:** Bettmann/Corbis. **12.2:** Steve McCutcheon/Visuals Unlimited**. 12.3(a):** ASM Publications**. 12.3(b):** Clinton R. Fuller**. 12.4:** Steven Lindow, Lindow Lab/The Ice Lab, University of California, Berkeley. **12.5:** Photodisc/Getty Images. **12.6:** Jeffrey L. Rotman/Corbis.

Capítulo 13: Portada: Manny Ceneta/AFP/Getty Images. **13.1:** Rooster photo: Eric Carlson, invisiblerobot.com; Digital dental implants: Seelevel.com. **13.2 (part 1):** Clemson University/USDA Cooperative Extension Slide Series, United States. **13.2 (part 2):** Steven Katovich, USDA Forest Service, Bugwood.org. **13.6:** Richard Olsenius/National Geographic. **13.8:** Sidney Harris.

Créditos de las ilustraciones

Figura 1.3: de *Biotechnology*, tercera edición de John E. Smith, figura 1.3, p. 15, figura 11.1, p. 191 y figura 11.2, p. 193. Reproducido con autorización de Cambridge University Press.

Figura 1.16: de *Focus on Fundamentals*: *The Biotechnology Report, 15th Annual Review*, graph «Private and Public Biotech Companies by Region.» Copyright © 2002 Ernst & Young LLP. Autorización para utilizar material registrado concedida por Ernst & Young LLP.

Figura 1.17: de website: http://massbio.org.

Figuras 2.1, 2.3, 2.9, 2.12, 2.15, 2.19, 3.3, 3.7, 3.11(a), & 3.15: de *Biology*, quinta edición de Neil A. Campbell, Jane B. Reece & Lawrence G. Mitchell.

Figuras 2.16, 2.18, 3.19 (Becker): de *The World of the Cell*, Seventh Edition by Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith, Jeff Hardin & Gregory Paul Bertoni.

Figura 3.13: de *Biology*, octava edición, by Neil A. Campbell & Jane B. Reece.

Figuras 3.21, 3.22: de *Understanding the Human Genome Project*, segunda edición por Michael A. Palladino.

Figura 4.1: de *Protein Biotechnology* de Gary Walsh y Dennis Headon, figura 3.1, p. 42. Copyright © 1994, John Wiley & Sons, Limited. Reproducido con autorización.

Figura 4.2: de *Biotechnology*, tercera edición por John E. Smith, figura 1.3, p. 15, figura 11.1, p. 191 y figura 11.2, p. 193. Reproducido con autorización de Cambridge University Press.

Figura 4.3: adaptado de la ilustración por Darryl Leja for National Human Genome Research Institute (NHGRI).

Figura 4.10, 4.11, & 4.13: de *Proteins to PCR* de David W. Burden, figura 5.4, p. 99, figura 5.5, p. 102, figura 5.6, p. 104. Copyright © 1995 de Springer-Verlag. Reproducido con autorización.

Figura 4.16: de «Antibodies Detect Protein Building» figura 4.17, p. 44 de *Genomics & Proteomics* November/December 2001. Copyright © 2003 *Genomics & Proteomic*, una publicación de Reed Business Information, una división de Reed Elsevier Inc. Todos los derechos reservados. Reproducido con autorización.

Figuras 5.12 & 5.13: de *Microbiology*, séptima edición por Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke & Christine L. Case.

Figura 5.17: de «Application of High-Density Microarrays for Expression and Genotype Analysis in Infectious Disease» de Michael Lorence, figura 3, p. 11 de *American Biotechnology Laboratory*, January 2006. Reproducido con autorización de International Scientific Communications.

Figura 5.19: de «The Magic of Microarrays» de S.H. Friend y R.B Stoughton, de *Scientific American* 286(2) 44–53, February 2002.

Figura 6.12: de «Bonkers about Biofuels» de S. Herrerra. De *Nature Biotechnology*, v. 24 n. 7, July 2007, p. 755–160.

Figuras 6.2, 6.3, 6.4, 6.6, 6.10, & 7.13: de *Recombinant DNA*, segunda edición de James D. Watson, et al. © 1992 de James D. Watson, Michael Gilman, Jan Witkowski y Mark Zollar. Utilizado con autorización de W. H. Freeman and Company.

Figura 7.2: de «Zebrafish Impacts Bioinformatics Programs» by Henry McCoy, figura 1, p. 25, *Genetic Engineering News*, v. 21, n. 11, 6/1/01 ©2001. Reproducido con autorización.

Figura 7.4: de »A Mightier Mouse with Human Adaptive Immunity» de M. Kosko-Vilbios. De *Nature Biotechnology*, v. 22 n. 6, June 2004, p. 684–685, 2004. ©2004 Nature Publishing Group. Utilizado con autorización.

Figura 8.5: Cortesía del Dr. Donald E. Riley, University of Washington. ©1997.

Figura 9.5: reproducido con autorización de «Anaerobes to the Rescue» de Derek R. Lovley, figura de p. 1445, *Science* 293: 1444–1446 (2001) August 24, 2001. Copyright © 2001 American Association for the Advancement of Science.

Figura 9.16: de «Plants tackle explosive contamination» de R.B. Meagher, de *Nature Biotechnology*, v. 24, n.2, February 2006, pp. 161–163. Copyright © 2006 Nature Publishing Group. Utilizado con autorización.

Figuras 10.5 & 10.6: reproducido con autorización de «Antifreeze proteins and their genes» de Garth L. Fletcher, Sally V. Goddary y Yaling Wu, figuras 3 y 10, *Chemtech* 1999, 30(6), 17–28. Copyright © 1999 de American Chemical Society. Utilizado con autorización.

Figura 11.4: de *Principles of Cell & Molecular Biology*, segunda edición de Lewis J. Kleinsmith y Valerie M. Kish, figura 3-53, p. 110. Copyright © 1995 de HarperCollins College Publishers. Reproducido con autorización de Pearson Education, Inc.

Figura 11.5: de *Concepts of Genetics*, séptima edición de William S. Klug y Michael R. Cummings, figura 20-9, p. 530. Copyright © 2003, 2000, 1997 de William S. Klug y Michael R Cummings.

Figura 11.7: de «Pharmacogenomicists dream of customized drugs, but significant technical challenges» de Aileen Constans, figura «Pharmacogenetics: A Case Study,» *The Scientist* Volume 16, Issue 19, 44, September 30, 2002. Reproducido con autorización de National Institute of General Medical Sciences.

Figura 11.8: de J. Derisi «Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer.» *Nature Genetics* v. 14, n. 4, pp. 457–460. Copyright © 1996 Nature Publishing Group. Utilizado con autorización.

Figura 11.10: de «Nanotechnology takes aim at cancer» de R.F. Service. De *Science* 310: 1132–1134, November 2005.

Figura 11.14: de «Therapeutic Interference» by C.W. Schmidt. De *Modern Drug Discovery*, July 2003, pp. 37–42.

Figura 11.23: de «Reprogramming by the numbers» by S-I Nishikawa. De *Nature Biotechnology* v. 25, n. 8, pp. 877–878, 2007. Copyright © 2007 Nature Publishing Group. Utilizado con autorización.

Figura 11.24: de «Cultivating Policy de Cell Types» de Eugene Russo, figura «Repairing Heart Attacks with Adult Stem Cells,» *The Scientist* 15(11):6, May 28, 2001. Reproducido con autorización de National Human Genome Research Institute.

Figura 12.8: de Jensen y Murray. De *Science*, 310, pp. 239–240.

Glosario

Acetilasa: enzima producida por el gen *lacA* del operón lactosa (lac) en las bacterias.

Ácido desoxirribonucleico (DNA): ácido nucleico de doble cadena compuesto por bases (adeninas, guaninas, citosinas, timinas), azúcares (desoxirribosa) y grupos fosfato dispuestos en una molécula helicoidal. Es el material genético heredado que contiene "genes", los cuales dirigen la producción de proteínas en una célula.

Ácido ribonucleico (RNA): compuesto por hebras simples de nucleótidos producidos a partir de DNA. Los diversos tipos de RNA tienen funciones importantes en la síntesis de proteínas.

Ácidos nucleicos: moléculas compuestas por bloques estructurales de nucleótidos. Los dos tipos principales son el DNA y el RNA.

Acuicultura: cría de peces, mariscos o plantas acuáticas para usos comerciales o recreativos.

Adenina: su abreviatura es A. Es una base púrica presente en el DNA y en los nucleótidos de RNA.

Adenosín trifosfato (ATP): nucleósido-trifosfato que contiene la base nitrogenada adenina. El ATP es la forma primaria de energía utilizada por las células vivas.

Adenovirus: virus que causa el resfriado común.

Administración de Alimentos y Fármacos (Food and Drug Administration, FDA): agencia del gobierno federal de Estados Unidos que regula las cuestiones de seguridad en alimentos y fármacos.

Aerobios: organismos que necesitan oxígeno para su metabolismo.

Agencia de Protección Ambiental: véase Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos.

Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos: agencia cuyo objetivo principal es proteger la salud humana y el entorno natural (aire, agua y tierra) trabajando con otras agencias federales de Estados Unidos y los gobiernos estatales y locales para desarrollar y aplicar las normativas que están bajo las leyes medioambientales existentes.

Agencia Europea para la Evaluación de Productos Medicinales (EMEA): agencia que autoriza productos medicinales para uso humano y veterinario. También ayuda a difundir el conocimiento científico facilitando información sobre productos nuevos en los 11 idiomas oficiales de la Unión Europea.

Agentes oxidantes: átomos o moléculas que aceptan electrones durante una reacción redox y causan la oxidación de otros átomos o moléculas. Conocidos como aceptores de electrones, los agentes oxidantes se reducen cuando aceptan un electrón.

Agrobacter: bacteria del suelo que invade los tejidos vegetales dañados.

Agua residual: agua que ha sido tratada para eliminar los contaminantes químicos o los residuos. Agua tratada tal y como sale de la planta depuradora, como el agua que sale de una planta de tratamiento de residuos.

Alimentos modificados genéticamente: alimentos que han sido alterados genéticamente para producir una serie de características deseadas.

Amilasa: enzima que digiere el almidón.

Aminoácidos: componentes básicos de estructura proteínica. Pueden unirse combinaciones de 20 aminoácidos diferentes mediante enlaces covalentes en orden y longitud variable para formar un polipéptido.

Aminoacil RNA de transferencia (tRNA): molécula de RNA de transferencia (tRNA) a la que se une un aminoácido.

Amniocentesis: técnica para obtener células del feto, cuando se encuentra dentro de la madre gestante, para analizarlas y determinar su composición genética, lo cual nos dará datos como el número de cromosomas o el sexo del feto.

Ampliación: modificación del proceso de purificación con respecto al de la investigación original.

Anaerobios: son los organismos que no necesitan oxígeno para su metabolismo.

Análisis de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO): técnica de prueba genética que implica la utilización de la PCR con oligonucleótidos específicos de un gen problema para analizar el DNA de una persona.

Análisis de *Northern blot:* técnica de laboratorio para separar las moléculas de RNA por electroforesis en gel y transferir (el llamado *blotting*) el RNA a un papel de filtro para su utilización en estudios de hibridación.

Análisis de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP): técnica de identificación genética del DNA que implica su digestión en fragmentos de diversas longitudes utilizando enzimas de restricción. Después, se analizan los patrones de los fragmentos de DNA para crear una "huella genética".

Análisis del S*outhern blot*: técnica de laboratorio inventada por Ed Southern que implica la transferencia (*blotting*) de fragmentos de DNA a un papel de filtro para su uso en estudios de hibridación con sondas.

Análisis del *Western blot:* técnica de laboratorio para separar moléculas de proteínas mediante electroforesis en gel y trans-

ferir proteínas a un papel de filtro que se suele incubar con anticuerpos para estudiar la estructura y el funcionamiento de las proteínas.

Angiogénesis: crecimiento de nuevos vasos sanguíneos.

Animales *knock-in*: animales que pueden tener un gen humano insertado para sustituir el suyo propio mediante recombinación homóloga, convirtiéndose así en animales *knock-in*.

Animales *knock-out*: animales en los que un gen activo se sustituye con DNA carente de información funcional.

Anotación: método de la bioinformática que implica la búsqueda de bases de datos para determinar si la secuencia y la función de una secuencia genética ya han sido determinadas.

Antibiótico: sustancia producida por los microorganismos que inhibe el crecimiento de otros microorganismos; se suele utilizar para tratar infecciones bacterianas en humanos, mascotas y animales de granja.

Anticodón: secuencia de tres nucleótidos al final de una molécula de tRNA. Durante la traducción, el anticodón se une a un codón específico en una molécula de mRNA mediante emparejamiento de bases complementarias.

Anticuerpos: proteínas producidas por el sistema inmune como respuesta a una molécula que no es propia; inmunoglobulinas que se unen a los antígenos, producidas por las células B, y que funcionan como efectores en una respuesta inmunitaria.

Anticuerpos monoclonales (MAB): anticuerpos proteicos producidos a partir de clones de una sola célula. Estas proteínas son altamente específicas para un antígeno concreto.

Antígeno prostático específico (PSA): es una proteína liberada en el torrente sanguíneo cuando la glándula prostática está inflamada; sus niveles elevados en sangre pueden servir de marcador indicando una inflamación de la próstata e incluso cáncer de próstata.

Antígenos: moléculas específicas de superficies concretas que pueden inducir la respuesta de los anticuerpos; sustancias que desencadenan la producción de anticuerpos cuando se introducen en el cuerpo.

Antiparalelo: hace referencia a la dirección 5′ y 3′ de las hebras de DNA en que las dos hebras unidas mediante enlaces de hidrógeno entre los pares de bases complementarias están orientadas en direcciones opuestas con respecto a su polaridad.

Apoptosis: comprende una compleja cascada de proteínas celulares que causan la muerte celular; la apoptosis controlada es un importante proceso biológico que remodela los tejidos durante el desarrollo; la apoptosis incontrolada se encuentra implicada en enfermedades degenerativas como la artritis. También es conocida como "muerte celular programada".

Armas biológicas: materiales biológicos utilizados como armas.

Arquea: véase Dominio Arquea.

Arroz dorado: arroz modificado mediante ingeniería genética para dotarlo de un mayor contenido en vitamina A.

Asistente de fabricación: tipo de trabajo inicial en el que se encuadran los puestos de manipuladores de material, asistentes de fabricación y adjuntos de fabricación. Los puestos de supervisión y de gestión suelen necesitar de un estudio de grado o de un master en biología o química y varios años de experiencia en la fabricación de productos o el tipo de productos que se fabrican en una empresa.

Asociados/ayudantes de investigación: puestos de laboratorio en los que quienes trabajan se encargan principalmente de realizar experimentos bajo la supervisión de otros científicos como los científicos directores o veteranos (senior).

Astaxantina: pigmento que le da a las gambas su color rojizo característico. Se utiliza astaxantina recombinante para cambiar el color de especies de cría en acuicultura como el salmón.

Autorradiografía: técnica que utiliza una película para detectar compuestos radiactivos o emisores de luz (como las sondas de DNA) en células, tejidos o *blots*; produce imágenes de película fotográfica llamadas autorradiogramas o autorradiografías.

Autorradiograma: imagen creada exponiendo una película fotográfica a un compuesto etiquetado radiactivamente.

Autosomas: cromosomas cuyos genes no tienen como función principal el determinar el sexo de un organismo; son los cromosomas 1 al 22 en los seres humanos.

Autotrasplante: trasplante de los propios tejidos de un paciente de una parte del cuerpo a otra; por ejemplo, el autotrasplante de piel o de pelo o la cirugía de *bypass* de la arteria coronaria.

Avidina: proteína presente en la clara de huevo que se une a la biotina e inhibe el crecimiento bacteriano.

Azúcar pentosa: azúcar de cinco carbonos. Este azúcar es un componente importante de la estructura de nucleótidos del DNA y del RNA. Los azúcares pentosa desoxirribosa y ribosa están presentes, respectivamente, en los nucleótidos de DNA y en los nucleótidos de RNA.

Bacillus thuringiensis (Bt): bacteria que produce una proteína cristalina que disuelve la sustancia cementante existente entre las células del intestino medio de ciertos insectos.

Bacilos: bacterias con forma de bastón.

Bacterias: véase el Dominio Bacterias.

Bacteriófago: virus que infecta bacterias; se suele conocer sencillamente por "fago".

Baculovirus: virus que atacan las células de los insectos.

Base nitrogenada: componente importante de los nucleótidos de DNA y de RNA. A menudo simplemente se le denomina "base". Entre las estructuras que contienen nitrógeno, se encuentran las purinas de anillo doble (que incluyen las bases adenina y guanina) y las pirimidinas de anillo sencillo (que incluyen las bases citosina, timina y uracilo).

Beta-galactosidasa: enzima producida por el gen *lacZ* del operón lactosa (lac) en las bacterias; la beta-galactosidasa degrada el disacárido lactosa.

Biblioteca de DNA: véase Biblioteca de DNA genómico o Biblioteca de DNA complementario (cDNA).

Biblioteca de DNA complementario (cDNA): copias de DNA de todas las moléculas de mRNA expresadas en las células de un organismo. Puede "rastrearse" para aislar genes de interés.

Biblioteca de DNA genómico: conjunto de fragmentos de DNA que contienen todas las secuencias de DNA presentes en el genoma de un organismo, las cuales se pueden "rastrear" para aislar los genes de interés.

Bioacumulación: concentración o acumulación progresiva de una sustancia, como un contaminante químico, a medida que va escalando por la "cadena alimenticia" de organismo en organismo.

Bioaumentación (cultivo): adición de bacterias u otros microorganismos a un medio contaminado para ayudar a los microbios nativos en el proceso de biorreparación o biorremediación.

Biocápsulas: esferas o tubos diminutos llenos de células terapéuticas o de una sustancia química como un fármaco; pueden ser implantadas con fines terapéuticos. También se las conoce como "microcápsulas".

Biodegradación: utilización de microorganismos para descomponer sustancias químicas (no necesariamente contaminantes).

Biodiversidad: variedad de especies diferentes presentes en un ecosistema.

Bioética: área de la ética (un código de valores para nuestras acciones) relativa a las implicaciones de la investigación biológica y biomédica y a las aplicaciones biotecnológicas (particularmente con respecto a la medicina).

Bioético: persona que estudia bioética.

Bioimpedancia: técnica que implica la utilización de electricidad de baja tensión para medir la masa muscular y el contenido en grasa de los tejidos. Se utiliza, por ejemplo, para medir el contenido en grasa del pescado que se vende para su consumo.

Bioinformática: ciencia interdisciplinar que implica el desarrollo y la aplicación de las tecnologías de la información (tanto el *hardware* como el *software* informático) para analizar datos biológicos como secuencias de DNA y de proteínas. También incluye la utilización de ordenadores para el análisis de estructuras moleculares y la creación de bases de datos para almacenar y compartir datos biológicos.

Bioinformáticos: científicos especializados en bioinformática.

Biológico: que pertenece a la biología.

Bioluminiscencia: emisión de luz por parte de los organismos vivos.

Biomarcadores: sustancias que se utilizan como indicadores de un estado biológico para medir y evaluar objetivamente características de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.

Biomasa: peso seco del material vivo de parte de un organismo, un organismo entero o una población de organismos.

Biopelícula, *biofilm* o *biofouling*: adhesión de organismos a superficies. Ocurre, por ejemplo, cuando los moluscos se pegan a los cascos de los barcos o los microorganismos a los dientes.

Biopilas, bioceldas, biomontículos o pilas de composteo: grandes pilas de suelo contaminado que se han extraído de su sitio original. Se utilizan sistemas de aire y de vacío para ayudar a que se sequen estas pilas y liberen sustancias químicas por evaporación. A veces se utiliza el vacío para recoger los vapores químicos y meterlos en filtros.

Bioprocesamiento: utilización de sistemas biológicos para fabricar (procesar) un producto.

Bioprospección: conjunto de esfuerzos para sacar provecho del conocimiento autóctono sobre los recursos naturales. Sin embargo, la bioprospección también puede describir la búsqueda de compuestos anteriormente desconocidos en organismos que no se han utilizado nunca en la medicina tradicional.

Biopsia coriónica: es una técnica de muestreo de células fetales de la placenta para determinar la composición genética de estas células, como el número de cromosomas o el sexo del feto.

Biorreactores: sistemas celulares que producen moléculas biológicas (entre las que se pueden incluir fermentadores).

Biorremediación o biorreparación: utilización de organismos vivos para procesar, degradar y limpiar contaminantes del medio, tanto si aparecen de modo natural como por la acción del hombre.

Biorremediación o biorreparación *ex situ:* eliminación de agua o tierra contaminada del lugar de contaminación para su limpieza en otro sitio (como oposición a la limpieza de contaminantes en el lugar contaminado, un proceso denominado biorremediación o biorreparación *in situ*).

Biorremediación o biorreparación *in situ*: eliminación y limpieza de contaminantes en el mismo lugar donde se produce la contaminación. La limpieza *in situ* es lo contrario a la eliminación de tierras o de agua contaminada de un sitio diferente a donde se origina la contaminación, lo cual sería un proceso llamado biorreparación o biorremediación *ex situ*.

Biorreparación o biorremediación de fase líquida (*slurry phase*): proceso en el que se elimina el suelo contaminado de un sitio y se mezcla con agua, abonos y a menudo oxígeno en grandes tambores o biorreactores para crear una mezcla (lodo o *slurry*) que estimula la biorreparación mediante microorganismos existentes en el suelo.

Biorreparación o biorremediación de fase sólida: estrategias *ex situ* de limpieza del suelo que implican, principalmente, compostaje, *landfarming* (tratamiento biológico del suelo) o biopilas.

Biosensores: organismos vivos utilizados para detectar o medir los efectos biológicos de algún factor, como un contaminante químico, o de alguna otra situación.

Biotecnología: amplio campo de la ciencia que incluye muchas disciplinas diferentes diseñadas para utilizar organismos vivos o sus productos para realizar valiosos procesos industriales o de fabricación o aplicaciones que resolverán problemas.

Biotecnología acuática: uso de organismos acuáticos como peces, mariscos, bacterias marinas y plantas acuáticas para aplicaciones de biotecnología.

Biotecnología agrícola: disciplina de la biotecnología que se ocupa de las plantas y de sus aplicaciones, incluyendo la ingeniería genética de las plantas con propósitos agrícolas.

Biotecnología animal: amplia disciplina de la biotecnología que implica la utilización de animales para fabricar productos valiosos como proteínas recombinantes y órganos para trasplantes humanos; también incluye la clonación de organismos.

Biotecnología forense: análisis y aplicación de evidencias biológicas, como la del DNA y datos de la secuencia de proteínas, para ayudar a resolver o recrear crímenes.

Biotecnología médica: amplia disciplina de la biotecnología concebida para mejorar la salud humana. Incluye un amplio abanico de temas de la medicina humana, desde el diagnóstico de las enfermedades hasta el descubrimiento de los fármacos, el tratamiento de las enfermedades y la ingeniería de tejidos.

Biotecnología microbiana: disciplina de la biotecnología que implica la utilización de organismos (microorganismos como bacterias y levaduras) que no pueden ser vistos a simple vista para fabricar productos valiosos y poder aplicarlos.

Bioterrorismo: uso de materiales biológicos (organismos vivos o sus toxinas) como armas para causar miedo o daño a la población civil.

Bioventilación: bombeo de aire o de sustancias químicas que liberan oxígeno, como el peróxido de hidrógeno, en agua o suelos contaminados para estimular la degradación aeróbica mediante microorganismos.

Blastocisto: estructura hueca de unas 100 células que se forma una semana después de la fecundación de un óvulo.

Brazo p: brazo corto de un cromosoma.

Brazo q: brazo largo de un cromosoma.

Bromuro de etidio: colorante marcador que se intercala (penetra) entre los pares de bases del DNA. Se suele utilizar para teñir el DNA en geles, porque se vuelve fluorescente cuando se expone a luz ultravioleta.

Buenas prácticas clínicas: requisito de la FDA relativo a las pruebas clínicas que protege los derechos y la seguridad de las personas sometidas a estas pruebas y garantiza la calidad científica de los experimentos.

Buenas prácticas de fabricación: reglamentación instituida por la FDA para regular los estudios con animales sobre productos farmacéuticos.

Buenas prácticas de laboratorio: requisito de la FDA relativo a que los laboratorios que realizan pruebas sigan protocolos escritos, tengan las infraestructuras adecuadas, traten bien a los animales, registren los datos correctamente y realicen pruebas de toxicidad válidas.

Caja CAAT: secuencia corta de nucleótidos (CAAT) que se suele localizar aproximadamente a 80 o 90 pares de bases "hacia arriba" (en dirección 5') del sitio de inicio de muchos genes eucariotas; es parte de una secuencia promotora unida por factores de transcripción utilizados para estimular la RNA polimerasa.

Caja TATA (caja de Goldberg-Hogness): secuencia corta de nucleótidos (TATA) que se suele localizar a aproximadamente de 20 a 30 pares de bases "hacia arriba" (en la dirección 5') del sitio de inicio de muchos genes eucariotas. Es parte de la secuencia promotora unida por factores de transcripción utilizada para estimular la RNA polimerasa.

Calcitonina: hormona tiroidea que estimula la absorción de calcio por los órganos digestivos y ayuda al proceso de endurecimiento de los huesos (calcificación).

Callo: masa de tejido vegetal no diferenciado.

Carcinógeno: cualquier sustancia química que causa cáncer.

Cariotipo: procedimiento de laboratorio para analizar la cantidad y estructura de cromosomas en una célula.

Cariotipo especial: técnica de cariotipo que utiliza sondas específicas para cada cromosoma que emite colores diferentes por fluorescencia para identificar los cromosomas según su patrón de color.

Carragenina: polisacárido (azúcar) derivado de las algas. Tiene muchas utilidades como agente espesante en productos de uso diario como jarabes, salsas y adhesivos.

cDNA: DNA sintetizado como una copia exacta del mRNA. El mRNA se degrada mediante tratamiento con una solución alcalina o por digestión enzimática; después, se utiliza DNA polimerasa para sintetizar una segunda cadena para crear cDNA de doble cadena.

Cebadores o *primers*: oligonucleótidos complementarios a secuencias específicas de interés. Se utilizan en reacciones PCR para amplificar el DNA y sus reacciones de secuenciación.

Células competentes: células bacterianas tratadas químicamente para que sean capaces de aceptar DNA (transformación) de su entorno. Es decir, deben ser "competentes" para aceptar DNA.

Células eucariotas: células que contienen un núcleo, como las células animales y vegetales, protistas y hongos.

Células madre (células madre derivadas de embriones y de adultos): células inmaduras (indiferenciadas) que son capaces de formar todos los tipos de células maduras en animales y que pueden diferenciarse a partir de embriones con varios días de edad o de tejidos adultos.

Células madre derivadas de adultos (ASC): células madre derivadas de los tejidos de un adulto, en contraposición a las células madre embrionarias, derivadas de un blastocisto. Pueden diferenciarse para producir otros tipos de células.

Células madre derivadas del líquido amniótico (AFS): células madre del líquido amniótico de las mujeres gestantes que se ha descubierto que tienen muchas características iguales que las células madre embrionarias.

Células madre embrionarias: células obtenidas normalmente de la masa celular interna de un blastocisto. Las células pueden sufrir diferenciación para formar todos los tipos de células del organismo.

Células madre embrionarias humanas: las células madre son células inmaduras que pueden crecer y dividirse para producir diversos tipos de células como las de la piel, los músculos, el hígado, los riñones y la sangre. La mayoría de las células madre se obtienen de embriones (células madre embrionarias o ESC). Algunas ESC pueden aislarse del cordón umbilical de los recién nacidos.

Células madre pluripotentes inducidas (iPS): reprogramación nuclear de las células humanas y de ratón, anunciada como una revolución en la investigación biológica de las células madre. Uno de los métodos ha implicado la utilización de retrovirus para introducir cuatro genes reguladores de la transcripción (*Oct3/4, Sox2, c-myc* y *Klf4)* en fibroblastos. La expresión de estos cuatro genes, que codifican factores de transcripción implicados en el desarrollo celular, "reprograma" los fibroblastos a un estado anterior al de la diferenciación. Las células iPS demuestran muchas propiedades de las células embrionarias humanas (hESC, por sus siglas en inglés), como la auto-renovación y la pluripotencia, y parecen ser indistinguibles de aquellas.

Células plasmáticas: células productoras de anticuerpos que se desarrollan a partir de linfocitos B después de que las células B hayan estado expuestas a materiales extraños (antígenos).

Células procariotas: células a las que les falta un núcleo y los orgánulos incluidos en la membrana. Los únicos ejemplos son las bacterias y el dominio Arquea.

Células somáticas: todos los tipos de células de los organismos multicelulares excepto los gametos (óvulo y espermatozoide).

Celulasa: enzima bacteriana que degrada el polisacárido celulosa (un componente primario de la pared celular vegetal).

Centrifugación: implica el uso de un instrumento llamado centrífuga para aplicar una fuerza de rotación a las muestras para separar componentes por su peso. La fuerza de rotación se mide en revoluciones por minuto (rpm) o ges (*g*). La centrifugación tiene varias aplicaciones importantes relacionadas con la separación de los componentes de una mezcla (por ejemplo, separar proteínas del DNA o separar diversos tipos de células).

Centrómero: región limitada de un cromosoma formada por la mezcla de DNA y proteínas que mantiene dos cromátidas hermanas juntas.

Cerdo ecológico: cerdo transgénico que expresa la enzima fitasa en su saliva y libera fósforo orgánico en el intestino. Se considera ecológico porque produce mucho menos fósforo en su orina y en sus heces que los cerdos no transgénicos.

Chip de DNA: chip consistente en un portaobjetos de microscopio de cristal que contiene miles de trozos de moléculas de

DNA de cadena única adheridas a lugares específicos del portaobjetos. Cada posición de DNA es una secuencia única.

Chip de genes: véase *Microarray* de DNA.

Chip de proteínas: véase *Microarray* o micromatriz de proteínas.

Chitosán: polímero polisacárido derivado de la quitina. Se utiliza en muchas aplicaciones, desde la asistencia sanitaria hasta la agricultura, pasando por los tintes para telas y los suplementos dietéticos para perder peso.

Ciclo lítico: proceso de replicación de bacteriófagos que implica que los fagos infecten las células bacterianas y después se repliquen y rompan (lisen) las células bacterianas que los hospedan.

Ciencias básicas: disciplinas de investigación que examinan aspectos fundamentales de los procesos biológicos, a menudo sin aplicaciones directas obvias (para la cura de una enfermedad o la fabricación de un producto).

Científicos directores (*senior*): ocupan un puesto de liderazgo en las empresas de biotecnología. Los científicos veteranos o *senior* suelen ser profesionales con un doctorado o un master que planifican y dirigen las prioridades de investigación de una empresa.

Cigoto: célula diploide formada cuando se unen dos gametos haploides, como el espermatozoide y el óvulo.

Citoplasma: contenido interior de una célula, tanto el líquido (el citosol) como los orgánulos. Está limitado por la membrana plasmática.

Citocinas: factores estimulantes que mejoran el funcionamiento del sistema inmunológico de los animales.

Citosina: su abreviatura es C. La citosina es una base de pirimidina presente en los nucleótidos de DNA y RNA.

Citosol: líquido acuoso del citoplasma de consistencia parecida a la de un gel y lleno de nutrientes.

Clon: copia genéticamente idéntica de una célula o de un organismo entero. También describe el proceso de fabricación de copias de un gen, una célula o un organismo.

Clonación de genes: proceso de producir copias múltiples de un gen.

Clonación reproductiva: proceso de clonación que crea un nuevo individuo. Este proceso suele implicar la utilización de material genético de una sola célula para crear un individuo únicamente con la composición genética de su célula creadora.

Clonación *shotgun* (o aleatoria): clonación aleatoria de muchos fragmentos a la vez. No se escoge específicamente un gen concreto para su clonación.

Clonación terapéutica: utilización del DNA de un paciente para crear (clonar) un embrión como fuente de células madre que podrían ser utilizadas en aplicaciones terapéuticas para tratar al paciente.

Cloroplasto: orgánulo fotosintético de las plantas complejas.

Cocci: bacterias en forma de esfera.

Código genético: información contenida en bases de DNA y RNA con instrucciones para las células para sintetizar proteínas. Consiste en combinaciones de tres nucleótidos llamadas codones.

Codón: cada combinación de secuencias de tres nucleótidos en una molécula de mRNA. Con pocas excepciones, cada codón codifica un solo aminoácido; 64 codones posibles componen el código genético de las moléculas de mRNA.

Colagenasa: proteasa (enzima que digiere proteínas) utilizada en varias aplicaciones de biotecnología.

Colchicina: sustancia derivada de las flores del crocus que bloquea la formación de microtúbulos. Se utiliza para detener la división celular (por ejemplo, cuando se crean organismos poliploides).

Cólera: infección intestinal aguda de los seres humanos causada por la bacteria *Vibrio cholerae* que causa diarrea severa, lo que puede provocar deshidratación y la muerte, especialmente en el caso de los niños pequeños, si no se trata adecuadamente. Se disemina mediante el agua y los alimentos contaminados. La bacteria se suele encontrar en el suministro de agua de los países en desarrollo que tienen unas condiciones sanitarias deficientes.

Comité Asesor del DNA recombinante (RAC): panel del NIH responsable del establecimiento y la supervisión de las directrices que afectan a la investigación del DNA recombinante y de asuntos relacionados con ella.

Complejo principal de histocompatibilidad (MHC): proteínas presentes en todas las células y los tejidos. El sistema inmunológico de las personas las reconoce para determinar si las células son las normales del cuerpo o son extrañas. Las MHC deben ser "emparejadas" cuando se quiere tener éxito en un trasplante de órganos.

Complejo sitenciador inducido por RNA RISC (*RNA-induced silencing complex*): RISC desenrolla la doble cadena de los siRNA, liberando siRNA de cadena simple que se unen a las secuencias complementarias en moléculas de mRNA. La unión de siRNA al mRNA da como resultado la degradación del mRNA (por la enzima cortadora *slicer*) o bloquea la traducción interfiriendo con la unión del ribosoma.

Compost: mezcla de tierra con heno, paja, restos de hierba y pasto, astillas de madera u otros materiales de relleno similares para estimular la biodegradación realizada por los microbios del suelo. También se usa para degradar los materiales cotidianos, como restos de la fruta y la verdura que ingerimos, restos de hierba y pasto, algas y hojas.

Compuestos inorgánicos: véase Moléculas inorgánicas.

Condiciones aeróbicas: condiciones en las que hay presencia de oxígeno.

Consentimiento informado: se aplica a las pruebas clínicas en seres humanos. Se informa a los pacientes sobre los efectos potenciales, tanto beneficiosos como perjudiciales, de un tratamiento concreto para que tengan conocimiento de los riesgos de un procedimiento antes de que acepten (consientan) participar.

***Contigs* (secuencias contiguas):** se secuencian por separado fragmentos de cromosomas enteros digeridos por enzimas de restricción y se utilizan programas informáticos después para alinear los fragmentos con base en trozos de secuencias superpuestas denominadas *contigs* (secuencias contiguas).

Control de calidad (*quality control* o QC): procedimientos que forman parte del proceso de garantía de calidad que implican las pruebas de laboratorio y la supervisión de los procesos de producción para garantizar el cumplimiento coherente de los estándares de los productos (de pureza, rendimiento, etc.).

Corrimiento de bandas (*band shifting*): fragmentos de DNA del mismo peso molecular que no migran con uniformidad debido a variaciones en la matriz del gel.

Corte y empalme del RNA (RNA *splicing*): eliminación de secuencias que no codifican proteínas (intrones) de transcritos primarios (pre-mRNA) y la unión de secuencias que codifican proteínas (exones).

Cría selectiva: consiste en aparear organismos con unas características deseadas para que produzcan descendencia con las mismas características.

Criopreservación/crioconservación: almacenamiento de muestras de tejido a temperaturas muy bajas (de –150 ºC a –20 ºC).

Cristalografía de rayos X: identificación de moléculas en base a los patrones producidos después del bombardeo de sus cristales con rayos X.

Cristalografía por rayos X automatizada: rápido análisis por rayos X de la estructura de las proteínas utilizando algoritmos y análisis de datos.

Cromátidas hermanas: copias exactas de moléculas de DNA de doble hebra y de proteínas (cromatina) unidas para formar un cromosoma.

Cromatina: hebras de DNA enrolladas alrededor de proteínas. Están presentes en el núcleo de los eucariotas y en el citoplasma de los procariotas. Se enrollan fuertemente entre sí para formar cromosomas durante la división celular.

Cromatografía: método de separación por columnas que utiliza esferas de resina que poseen una capacidad especial de separación.

Cromatografía por afinidad: técnica de separación basada en el acoplamiento único de tipo "llave-cerradura" entre una molécula y su anticuerpo unido a la columna. Esta técnica implica el paso de proteínas o de otras sustancias en solución por un medio que se unirá, debido a su afinidad, con componentes específicos de la solución. Se utiliza para aislar proteínas de fusión de una mezcla de proteínas celulares bacterianas.

Cromatografía por exclusión de tamaño (SEC): separación basada en el tamaño molecular.

Cromatografía por interacción hidrófoba (HIC): separación cromatográfica basada en la unión de partes hidrófobas de proteínas a la columna.

Cromatografía por intercambio iónico (Ión X): unión de proteínas a una columna basándose en sus grupos con carga.

Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC): separación de proteínas similares a alta presión utilizando esferas duras con propiedades especiales.

Cromosoma artificial de levadura (YAC): uno de los vectores plasmáticos cultivados en células de levadura que pueden replicar fragmentos muy grandes de DNA. Se utiliza para clonar trozos de cromosomas humanos para el Proyecto del Genoma Humano.

Cromosomas: disposición del DNA y de las proteínas en plegamientos fuertes. El DNA se empaqueta para permitir una separación uniforme del material genético durante la división celular.

Cromosomas artificiales bacterianos (BAC): grandes vectores circulares que pueden replicar fragmentos muy grandes de DNA. Se utilizan para clonar piezas de cromosomas humanos para el Proyecto del Genoma Humano.

Cromosomas maternos: son los 23 cromosomas heredados de la madre.

Cromosomas sexuales: contienen la mayoría de los genes que determinan el sexo de un organismo. Son los cromosomas X (para sexo femenino) e Y (para sexo masculino) en el ser humano.

Cuerpos de inclusión: proteínas extrañas que se concentran en la célula transformada.

Cultivo: véase Bioaumento (cultivo).

Cultivo celular: consiste en hacer crecer células en condiciones de laboratorio fuera de un organismo completo (*in vitro*); el término se suele aplicar al cultivo de células de mamíferos.

Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA): agencia creada en 1862 que tiene muchas funciones relacionadas con el fomento y la regulación de la agricultura. Algunas de esas funciones son: la regulación de plagas, la de las plantas y la de la biología veterinaria.

Desnaturalización: proceso que implica la utilización de mucho calor o de un tratamiento químico para romper enlaces de hidrógeno en las moléculas de DNA o de RNA para separar los pares de bases complementarias y crear moléculas de cadena única. También hace referencia al acto de cambiar la estructura de las proteínas (mediante calor o tratamiento químico).

Despolimerización: proceso de reducir estructuras multiunitarias a unidades únicas.

Diabetes mellitus: enfermedad en la que hay un elevado nivel de azúcar en la sangre. Hay diversas formas de diabetes. En algunas personas falta la hormona insulina (en la diabetes de tipo 1 o diabetes mellitus insulino-dependiente).

Diabetes mellitus insulino-dependiente (de tipo I): causada por una producción inadecuada de insulina por las células beta. La producción insuficiente de insulina da como resultado una concentración elevada de glucosa en sangre (hiperglucemia) que puede causar varios problemas de salud, como hipertensión, circulación escasa, cataratas y daños en el sistema nervioso. Las personas con diabetes de tipo I requieren inyecciones regulares de insulina para controlar sus niveles de azúcar en sangre.

Diafiltración: véase Diálisis.

Diálisis: separación de agua y un soluto a través de una membrana semipermeable.

Dicer: enzima que corta los fragmentos transcritos de microRNA en fragmentos cortos de cadena única de 21 a 22 nucleótidos.

Dicotiledóneas: plantas cuyo embrión de la semilla presenta dos cotiledones u hojitas iniciales (como los cacahuetes).

Didesoxirribonucleótido (ddNTP): nucleótido modificado. Un ddNTP se diferencia de un desoxirribonucleótido normal (dNTP) en que tiene un grupo hidrógeno unido al carbono 3′ del azúcar desoxirribosa en lugar de un grupo hidroxilo OH.

Diferenciación: proceso de maduración celular. Implica cambios en los patrones de expresión génica que afectan a la estructura y el funcionamiento de las células. Por ejemplo, las células madre embrionarias se diferencian para producir células maduras como neuronas, células hepáticas, epidérmicas y todos los demás tipos de células del organismo.

Diploide: hace referencia a una célula o a un organismo que contiene dos series de cromosomas: normalmente, uno procedente de la madre y otro del padre. En el estado diploide, el número haploide se dobla. Así, este estado también se conoce como 2*n*.

División de embriones: división de embriones por la mitad en el estado de desarrollo de dos células para producir dos embriones.

DNA complementario (cDNA): es la copia de DNA de una molécula de mRNA. La enzima transcriptasa inversa puede copiar el mRNA en cDNA (por ejemplo, cuando se prepara una biblioteca de cDNA).

DNA extracromosómico: DNA que no es parte del DNA nuclear (cromosómico) de un organismo. Como ejemplos están el DNA plasmídico y el DNA mitocondrial.

DNA mitocondrial: pequeño DNA circular que se encuentra en las mitocondrias y que es responsable de las proteínas úni-

cas de la mitocondria. Las mutaciones que tengan lugar en este DNA pasan de la madre a su descendencia, ya que el óvulo es la fuente primordial de mitocondrias.

DNA helicasa: enzima que separa las dos cadenas de una molécula de DNA durante la replicación del DNA.

DNA ligasa: enzima que forma enlaces covalentes entre fragmentos incompletos de DNA (de Okazaki) durante la replicación del DNA. Se usa normalmente para unir fragmentos de DNA en experimentos con DNA recombinante.

DNA-polimerasa: enzima clave que copia cadenas de DNA durante la replicación del DNA para crear nuevas cadenas de nucleótidos. Tiene importantes aplicaciones para la síntesis de DNA en experimentos de biología molecular.

Doctrina de equivalentes: si el poseedor de una patente denuncia la violación de una patente en dos secuencias similares de DNA, un tribunal debe decidir si las secuencias tienen esencialmente la misma función.

Dominio Arquea (Archaea): clasificación (dominio) de las células procariotas. Una característica común de estos microbios es que viven en medios extremos, por ejemplo, en fuentes de aguas hirviendo.

Dominio Bacteria: categoría taxonómica de los seres vivos que incluye las bacterias. Siendo uno de los tres dominios (Bacteria, Arquea o Archaea, Eukarya o Eukaryota), el dominio Bacteria es el más diverso y consiste fundamentalmente en procariotas unicelulares.

Dominios: categorías taxonómicas superiores al nivel de reino: Arquea o Archaea, Bacteria y Eukarya o Eukaryota.

Dominios de unión al DNA: zonas con disposiciones estructurales plegadas de aminoácidos denominadas motivos que interaccionan directamente con el DNA.

***Dot blot*:** tira de detección recubierta con secuencias de DNA que refleja las posiciones del DNA humano en las que se diferencian los alelos (genes) que forman anticuerpos.

Eficacia: efectividad de un producto concreto como un fármaco o un procedimiento médico.

Electroforesis bidimensional: técnica de separación de proteínas basada en la migración de las partículas en dos direcciones motivada por la carga eléctrica.

Electroforesis en gel: procedimiento de laboratorio que implica la utilización de carga eléctrica para mover y separar las biomoléculas de distintos tamaños, como el DNA, el RNA y las proteínas mediante una matriz de gel semisólido de separación. Entre los ejemplos se incluyen la electroforesis en gel de agarosa y la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE).

Electroforesis en gel de agarosa: véase Electroforesis en gel.

Electroforesis en gel de sodio dodecil sulfato poliacrilamida (SDS-PAGE): separación de proteínas basada en el tamaño molecular y la distribución uniforme de grupos sulfato cargados.

Electroporación: proceso (también llamado electropermeabilización) para transformar las bacterias con DNA que utiliza una descarga eléctrica para trasladar el DNA a las células. Se puede utilizar también para introducir DNA en células animales o vegetales.

Empresa de nueva creación: formada por un pequeño equipo de científicos que creen que podrían fabricar un producto prometedor (como una proteína recombinante para tratar una enfermedad). Después, el equipo debería buscar inversores para financiar su empresa, de modo que puedan comprar o alquilar algún laboratorio o sus instalaciones, comprar equipamiento y continuar con la investigación y el desarrollo necesarios para fabricar su producto.

Empresas farmacéuticas: empresas que fabrican y comercializan medicamentos para el tratamiento de enfermedades o alteraciones de la salud en los seres humanos.

Encefalopatía espongiforme transmisible (TSE): enfermedad por priones que puede aparecer en ovejas, en cabras (*scrapie* o prurito lumbar) y en vacas (encefalopatía espongiforme bovina, comúnmente conocida como "enfermedad de las vacas locas"). Las formas humanas de esta enfermedad que destruyen el cerebro incluyen el kuru y la encefalopatía espongiforme transmisible (TSE). Todas estas enfermedades implican cambios en la conformación de la proteína precursora del prión, una proteína que normalmente se encuentra en las neuronas de los mamíferos en forma de glucoproteína de la membrana.

Endotoxinas (lipopolisacáridos): moléculas tóxicas para las células. Las endotoxinas forman parte de la pared celular de ciertas bacterias y causan la muerte celular.

Enfoque deontológico (Kantiano): desarrollado por el filósofo alemán Immanuel Kant, este enfoque sugiere que deberíamos seguir los principios absolutos (de comportamiento moral o ético) en nuestras acciones.

Enfoque isoeléctrico: migración de una proteína hasta que su carga iguale el pH del medio.

Enfoque Kantiano: véase Enfoque deontológico (Kantiano).

Enlace fosfodiéster: enlace covalente que se establece entre el azúcar de un nucleótido y el grupo fosfato de un nucleótido adyacente. Une los nucleótidos dentro de las hebras de DNA y de RNA.

Enriquecimiento con nutrientes: véase Abonado.

Ensayo del lisado de amebocitos de Limulus (LAL): procedimiento que implica las células de la sangre (amebocitos) del cangrejo herradura (*Limulus polyphemus*). Es un test importante que se utiliza para detectar contaminación por endotoxinas y bacterias en los alimentos, el instrumental médico y en otras aplicaciones.

Ensayo (o estudio) doble ciego: estudio, como por ejemplo un experimento clínico, en el que ni los pacientes ni los investigadores que administran el tratamiento saben qué pacientes reciben un tratamiento farmacológico y cuáles reciben un placebo. Los investigadores conocen el tratamiento de cada paciente después de que se haya completado el estudio.

Ensayos clínicos/pruebas clínicas: proceso experimental de prueba de productos antes de la aprobación de un fármaco o de un plan de tratamiento para su utilización general en los seres humanos. Las pruebas clínicas implican varias "fases" de experimentos planificados cuidadosamente en grupos de diverso número de participantes humanos para probar la eficacia y la seguridad de los fármacos.

Ensayos de fase: es necesario un número estadísticamente significativo de pruebas en cultivos celulares, en animales vivos y en sujetos humanos en los ensayos de tres fases especificados por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA).

Enucleación: extirpación del DNA del núcleo de una célula.

Envuelta nuclear: membrana de doble capa. Suele ser la estructura más grande en una célula animal.

Enzimas: proteínas catalíticas.

Enzimas de restricción (endonucleasas): proteínas que cortan el DNA y que se encuentran mayormente en las bacterias. Las enzimas dividen (cortan) el eje fosfodiéster de DNA de doble cadena en secuencias de nucleótidos específicas (sitios de restricción). Las enzimas de restricción disponibles comercialmente son fundamentales para los experimentos de biología molecular.

Enzimas termoestables: enzimas capaces de resistir altas temperaturas y que se pueden aislar a partir de los termófilos. Por ejemplo, la *Taq* DNA polimerasa es una enzima termoestable.

Especialista en *marketing*: puesto de *marketing* y ventas en empresas de biotecnología. Los especialistas en *marketing* a menudo se ocupan del diseño de campañas de publicidad y de material promocional para comercializar eficazmente los productos de una empresa.

Especialistas en relaciones con el cliente: a veces trabajan en las secciones de control de calidad de las empresas. Una función de las relaciones con el cliente es estudiar las quejas de los consumidores respecto a un problema con un producto y hacer un seguimiento con el consumidor para dar una respuesta o una solución adecuada al problema detectado.

Especialistas legales: en las empresas de biotecnología estos especialistas suelen trabajar en temas legales asociados con el desarrollo y el *marketing* de productos, como los derechos de propiedad intelectual, los derechos de nombre y la obtención de patentes. El personal de este área también se ocupa de las circunstancias legales que pueden derivarse si surgen problemas con un producto o si hay litigios por parte del usuario de un producto.

Espectrometría de masas: separación o identificación basada en el cociente masa/carga.

Estado reconocido generalmente como seguro (GRAS): estado garantizado por la FDA de que un producto alimentario o un aditivo no plantea amenaza previsible.

Estatus desregulado: es el primer paso en la revisión del Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (APHIS), del USDA, de un producto alterado genéticamente en el que se comprueban los informes de campo, la literatura científica y cualquier otro registro pertinente antes de que el APHIS determine si el cultivo de la planta es tan seguro como el de las variedades tradicionales.

Estructura cuaternaria: proteínas que contienen más de una cadena de aminoácidos que se dobla en estructuras terciarias.

Estructura secundaria: estructura de proteínas en hélice alfa o en lámina beta.

Estructura terciaria: forma tridimensional única de una proteína.

Eugenesia: creación de una nueva especie superior de seres humanos.

Evolución molecular dirigida: proceso de selección de las proteínas después de un gran número de mutaciones.

Exones: secuencias codificadoras de proteínas en los genes eucariotas y en moléculas de mRNA.

Expresión génica: término utilizado generalmente para describir la síntesis (o expresión) del RNA realizada por una célula o un tejido concretos. Por ejemplo, si el mRNA del gen ficticio *korn* se detecta en un tejido mediante análisis PCR o *Northern blot,* se dice que ese tejido expresa el gen *korn*.

Extremo 3′: extremo de una cadena de DNA o de RNA en el que el último nucleótido no está unido a otro nucleótido mediante un enlace fosfodiéster implicando el carbono 3′ del azúcar pentosa.

Extremo 5′: extremo de una cadena de DNA o de RNA en el que el último nucleótido no está unido a otro nucleótido mediante un enlace fosfodiéster implicando el carbono 5′ del azúcar pentosa.

Extremos cohesivos (pegajosos): extremos de hebra única que sobresalen de una molécula de DNA creada por la acción de ciertas enzimas de restricción.

Extremos romos: extremos de doble cadena de una molécula de DNA creados por la acción de ciertas enzimas de restricción.

Fábrica de moléculas: uso de las plantas como fuente para elaborar productos farmacéuticos.

Factores de transcripción: proteínas de unión al DNA que se unen a regiones promotoras de un gen y estimulan su transcripción mediante la RNA polimerasa.

Farmacogenómica: tipo de medicina a la medida en la que las estrategias para tratar las enfermedades se diseñan tomando como base la información genética de la persona (para una enfermedad o trastorno de la salud concreto).

Fármacos antimicrobianos: sustancias químicas que inhiben o destruyen microorganismos.

Fase I: primera fase clínica de los ensayos de la FDA en la que de 20 a 80 voluntarios sanos toman la medicina para observar si aparece cualquier efecto secundario inesperado y para establecer los niveles de las dosis.

Fase II: segunda fase clínica de los ensayos de la FDA en la que las pruebas del nuevo tratamiento se realizan en 100 a 300 pacientes que, en realidad, padecen la enfermedad.

Fase III: tercera fase clínica de los ensayos de la FDA en la que se prueba entre 1.000 y 3.000 pacientes en un estudio doble ciego después de que la fase II no haya mostrado efectos secundarios adversos. Suele tener una duración media de 3,5 años.

Fecundación *in vitro*: tecnología de reproducción asistida en la que se extraen espermatozoides y óvulos de los pacientes y se cultivan *in vitro* para lograr que se produzca la fecundación.

Fermentación: proceso metabólico que produce pequeñas cantidades de ATP a partir de la glucosa en ausencia de oxígeno y que también crea subproductos como el alcohol etílico (etanol) o el ácido láctico (lactato). Los microbios de fermentación (bacterias y levaduras) son importantes en la producción de varias bebidas y diversos alimentos, como la cerveza, el vino, el pan, el yogur y el queso.

Fermentación del ácido láctico: véase Fermentación.

Fermentación del alcohol etílico: rotura enzimática de los hidratos de carbono (azúcares) en ausencia de oxígeno. Entre sus productos se encuentran el ATP, el CO_2 y el etanol (un tipo de alcohol) como productos de desecho. Es un tipo de metabolismo microbiano que se utiliza para la producción de algunas bebidas alcohólicas.

Fermentadores (biorreactores): recipientes para cultivar microorganismos o células de mamíferos en un proceso discontinuo (*batch*). Gracias a los vasos de fermentación, los científicos pueden controlar y vigilar las condiciones de crecimiento como temperatura, pH, concentración de nutrientes y densidad celular.

Fertilización (enriquecimiento con nutrientes): adición de nutrientes (abonos como nitrógeno y fósforo) a un entorno contaminado para estimular el crecimiento y la actividad de los microorganismos, presentes naturalmente en la tierra, que ayudarán a la biorreparación.

Fibras bisales: glándula formada por hebras o filamentos muy fuertes y ricos en proteínas presentes en los mejillones y en otros moluscos. Estas hebras tienen propiedades adhesivas únicas y pueden resistir grandes fuerzas de empuje y de estiramiento. Ayudan a que los moluscos se adhieran a sustratos tales como las rocas.

Filtración: agua u otros líquidos que se mueven (se filtran) a través del suelo desde la superficie o cerca de ella hacia capas más profundas.

Filtración por membranas: utilización de una fina lámina de membrana con agujeritos (poros) para filtrar materiales (como grandes proteínas o células enteras) de una solución.

Fitorremediación/fitorreparación: utilización de plantas para la biorreparación/biorremediación.

Formulario de investigación con fármacos nuevos (IND): solicitud formal a la FDA para considerar los resultados de experimentos previos con animales, la naturaleza de la sustancia en sí misma y los planes para seguir haciendo pruebas.

Fusión de protoplastos: fusión de una célula vegetal con otra célula.

Gametos: células haploides llamadas a menudo células "sexuales", entre las que se encuentran los espermatozoides y los óvulos humanos. Los gametos se unen durante la fecundación para formar un cigoto (véase Meiosis).

Garantía de calidad (*quality assurance* o QA): todas las actividades implicadas en la regulación de la calidad final de un producto, incluyendo las medidas de control de la calidad.

Gen: secuencia específica de nucleótidos de DNA que sirve como unidad de herencia. Los genes gobiernan las características visibles e invisibles de los organismos vivos en gran parte dirigiendo la síntesis de proteínas en una célula.

Gen *BRCA1*: gen que se encuentra en alrededor del 65 por ciento de los tumores de mama humanos. Suele formar parte del diagnóstico de cáncer de mama para su tratamiento.

Gen marcador: véase Genes informadores o reporteros.

GenBank: base de datos pública y conocida de secuencias de DNA en la que colaboran investigadores de todo el mundo. Es un recurso para compartir y analizar información sobre las secuencias de DNA.

Genentech: empresa de California. Su nombre deriva de la tecnología de ingeniería genética. Fundada en 1976, actualmente está considerada como la primera empresa de biotecnología del mundo.

Genes informadores o reporteros: genes (como los genes *lux*) que se pueden utilizar para seguir la pista o monitorizar (informar) sobre la expresión de otros genes.

Genoma: conjunto de todos los genes en el DNA de un organismo.

Genomas personalizados: secuenciación de un genoma para una persona.

Genómica: estudio de los genomas.

Genómica medioambiental (metagenómica): implica la secuenciación de genomas de comunidades enteras de microbios en muestras medioambientales de agua, aire y tierra de los océanos del mundo, glaciares, minas, es decir, de casi cada esquina del globo.

Genómica comparativa: conjunto de estudios que permite a los investigadores poder analizar la estructura y funcionamiento de los genes en organismos con modos diseñados específicamente para entender la estructura genética y su funcionamiento en otras especies, incluida la humana.

Genómica de la Edad de Piedra: varios laboratorios del mundo se están ocupando de analizar DNA "antiguo". Estos estudios están generando datos fascinantes a partir de cantidades minúsculas de DNA antiguo de los huesos y de otros tejidos de muestras fósiles con decenas de miles de años de antigüedad.

Genómica funcional: análisis de secuenciación genética de genes activos durante un evento celular.

Glifosfato: pequeña molécula que interacciona y bloquea la 5-enolpiruvil-sikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una enzima clave en la fotosíntesis de las plantas. Las plantas resistentes funcionan mediante una vía sustitutiva obtenida por transferencia genética.

Glucosilación: también llamada glicosilación, es un proceso natural de adición de azúcares a proteínas mediante células de estructura compleja.

Gripe: causada por un gran número de virus que pertenecen a la familia de virus de la gripe, enfermedad que mata cada año de 500.000 a 1 millón de personas en todo el mundo. Como los virus de la gripe mutan con tanta rapidez, no hay ninguna vacuna universal que proteja de todas las cepas.

Gripe aviar: el "virus de la gripe aviar" hace referencia a los virus de gripe A que se encuentran principalmente en aves, pero que pueden infectar a los seres humanos.

Guanina: su abreviatura es G. Base purínica presente en los nucleótidos de DNA y RNA.

Haploide: conjunto de 23 cromosomas.

Hebra líder, hebra adelantada o hebra conductora: durante la replicación del DNA, la hebra adelantada, líder o conductora es la cadena de DNA de nueva síntesis copiada por la DNA polimerasa de manera continua en el mismo sentido de 5′ a 3′ de avance de la horquilla de replicación.

Hebra molde: después de que la RNA polimerasa se une a un promotor, desenrolla una región del DNA para separar las dos hebras. Sólo una de ellas, llamada hebra plantilla (la hebra opuesta se denomina *hebra codificante*), es copiada por la RNA polimerasa.

hebra retrasada, hebra rezagada o hebra discontinua: durante la replicación del DNA, la hebra rezagada o discontinua es la cadena de DNA de nueva síntesis copiada por la DNA polimerasa de manera discontinua (interrumpida) en sentido de 3′ a 5′, es decir, contrario al avance de la horquilla de replicación formando una serie de trozos cortos de DNA llamados fragmentos de Okazaki.

Hélice: una de las dos estructuras secundarias de proteínas.

Hemoglobina: proteína de los glóbulos rojos en los vertebrados que se une al oxígeno y lo transporta. La mutación de los genes de globina que codifica la hemoglobina da como resultado varios trastornos de la sangre en los seres humanos con base genética, incluida la anemia falciforme o drepanocítica.

Herramienta de Búsqueda de Alineación Local Básica (BLAST): programa basado en Internet del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) que puede utilizarse para estudios de comparación de secuencias de nucleótidos de

DNA (alineación) y para buscar secuencias en GenBank y en otras bases de datos.

Hibridación: unión de dos cadenas de DNA mediante la formación de pares de bases complementarias. Por ejemplo, la unión de una sonda de DNA de cadena única a otra molécula de DNA.

Hibridación de colonias: procedimiento para unir una sonda de DNA de cadena única a moléculas de DNA de colonias bacterianas. Se utiliza para rastrear bibliotecas e identificar genes de interés.

Hibridación *in situ*: técnica de laboratorio que utiliza sondas de DNA de cadena única o de RNA que suelen estar marcadas con nucleótidos radiactivos o productores de color para identificar secuencias génicas en un cromosoma o célula *in situ* (que en latín significa "en su lugar de origen").

Hibridación *in situ* fluorescente (FISH): técnica de laboratorio que utiliza sondas de DNA o de RNA de cadena única marcadas con nucleótidos fluorescentes para identificar secuencias génicas en un cromosoma o célula *in situ* (lo que en latín quiere decir "en su lugar de origen").

Hibridomas: células híbridas utilizadas para crear anticuerpos monoclonales. Creadas por fusión de las células B con células tumorales denominadas células de mieloma que ya no producen anticuerpos por sí mismas.

Hidrófilo: literalmente, "que ama el agua" (es una porción de la molécula proteica).

Hidrófobo: literalmente, "que odia el agua" (es una porción de la molécula proteica).

Hidroxiapatita (HA): componente estructural de los huesos y del cartílago.

Histonas: proteínas que se unen al DNA y que son importantes para la estructura de los cromosomas.

Homólogos: genes relacionados de diferentes especies. Los genes comparten secuencias similares debido a un origen evolutivo común.

Hongos: organismos eucariotas que pertenecen al reino Fungi o reino de los Hongos.

Hormona del crecimiento (GH): es una hormona peptídica producida por la hipófisis. Acelera el crecimiento del hueso, el músculo y otros tejidos.

Hormonas: moléculas implicadas en la señalización química entre células y órganos. Transportadas en los líquidos corporales, las hormonas interactúan y controlan la actividad de muchas células.

Humulina: forma recombinante de la insulina humana. Se convirtió en el primer producto de DNA recombinante en ser aprobado para aplicaciones humanas por la FDA de Estados Unidos.

Identificación genética del DNA: análisis de la composición única del DNA de un organismo como marcador característico o huella genética con fines de identificación, como por ejemplo en el análisis forense, identificación de restos y atribución de paternidad. La identificación genética también se utiliza en investigación biológica (por ejemplo, para comparar especies relacionadas basándonos en sus secuencias de DNA).

***In vitro*:** que tiene lugar dentro de un entorno artificial como el de un tubo de ensayo. Proviene del latín y significa "dentro de un cristal".

***In vivo*:** que ocurre dentro de un organismo vivo. Proviene del latín y significaría "en algo vivo".

Ingeniería de tejidos: diseño y cultivo de tejidos para su uso en aplicaciones de medicina regenerativa.

Ingeniería genética: proceso de alteración del DNA de un organismo. Suele responder a un diseño previo.

Ingeniería genética germinal: alteración genética de los espermatozoides, los óvulos o los embriones para crear cambios genéticos heredables en la descendencia.

Ingeniería metabólica: modificación de un proceso químico que genera energía o que necesita energía (normalmente para mejorar la generación de energía o para reducir su uso) mediante un proceso químico o biotecnológico.

Ingenieros de bioprocesamiento: trabajan en la frontera entre la biología y la ingeniería para que "la ingeniería sirva a la vida" a través de la conversión de materiales biológicos en otras formas necesarias para la humanidad.

Inmunidad mediada por anticuerpos: porción del sistema inmunitario dedicada a producir anticuerpos que combaten los materiales extraños; también se conoce como inmunidad humoral.

Inmunodeficiencia combinada grave (SCID): enfermedad genética producida por una mutación en el gen que codifica la enzima adenosín deaminasa. Las personas afectadas no tienen sistema inmunológico funcional y pueden morir por infecciones comunes y que suelen ser menores. Es conocida popularmente como "el niño burbuja" porque los enfermos de SCID tienen que vivir en entornos sin gérmenes.

Instituto Nacional de la Salud (NIH): agencia gubernamental y punto focal de la investigación médica en Estados Unidos. Alberga centros y agencias de investigación de renombre mundial que constituyen una fuente esencial de financiación para la investigación biomédica en aquel país.

Insulina: hormona proteica producida por las células del páncreas. Está implicada en el metabolismo de la glucosa de las células. Las deficiencias en la producción de insulina o en la del receptor de insulina pueden causar diversas formas de diabetes.

Integración: inserción de DNA dentro de un genoma. Es un proceso mediante el cual los retrovirus como el lentivirus y el VIH pueden penetrar en células anfitrionas, copiar su genoma RNA y transformarlo en DNA e insertar aleatoriamente su DNA en el genoma de la célula anfitriona, donde se queda permanentemente.

Integridad de las especies: este término hace referencia al mantenimiento de las funciones y capacidades naturales y a la constitución genética de una especie concreta. Por ejemplo, la creación de animales o plantas recombinantes como los organismos transgénicos o poliploides puede cambiar la "integridad de las especies" haciendo que una especie esté peor adaptada a la vida salvaje.

Intrones: secuencias que no codifican proteínas en genes eucariotas y transcritos primarios eliminados durante el *splicing* (corte y empalme) del RNA.

Juramento hipocrático: juramento que plasma las obligaciones y deberes de los médicos. Una premisa del juramento es que los médicos traten a los pacientes con la intención de no empeorar la salud humana ("lo primordial es no infligir daños).

Laboratorio Internacional para la Agricultura y Biotecnología Tropical (ILTAB): laboratorio de investigación sin ánimo de lucro creado por Monsanto y otros para investigar variedades de plantas que podrían ser beneficiosas para diversos países mejorando la calidad de sus alimentos.

Lámina beta (lámina β): una de las dos estructuras secundarias de las proteínas.

***Landfarming* (tratamiento biológico del suelo):** proceso gracias al cual se elimina el suelo contaminado de un sitio esparciendo tierra en capas finas sobre una superficie que permite que los líquidos contaminados (normalmente agua) se filtren en el suelo. Las sustancias químicas también se evaporan de la tierra esparcida a medida que la misma se va secando.

Leucocitos: glóbulos blancos de la sangre. Son células muy importantes del sistema inmunológico, entre las que se encuentran los linfocitos B y T y los macrófagos.

Levadura: hongo unicelular.

Ley de no discriminación por información genética: esta ley estadounidense prohíbe la discriminación basada en la genética y la utilización impropia de la información genética en los seguros de salud y la contratación laboral.

Ley de Protección de la Inocencia: ley que da acceso al convicto a una prueba de DNA, prohíbe a los estados destruir evidencias biológicas mientras un criminal convicto esté preso, prohíbe la denegación del sometimiento a pruebas de DNA a los condenados a muerte y fomenta un sistema de compensaciones para los inocentes que han sido encarcelados.

Ligandos: componentes de unión.

Línea celular: una línea celular inmortalizada o estable ha adquirido la capacidad de proliferar indefinidamente, sea mediante mutación aleatoria o por modificación deliberada. Numerosas líneas celulares son representativas de tipos celulares concretos.

Linfocito T: tipo de glóbulo blanco (leucocito). Los linfocitos T, también llamados "células T", desempeñan una función esencial ayudando al sistema inmunitario a reconocer y responder a las materias extrañas (antígenos).

Linfocitos B (células B): leucocitos que se desarrollan en la médula ósea y que pueden madurar como células productoras de anticuerpos llamadas células plasmáticas.

Linfocitos T (células T): desempeñan una función esencial ayudando a las células B a reconocer y responder a los antígenos.

Liofilización: proceso de secado mediante congelación.

Lipasas: enzimas que digieren grasas.

Liposomas: pequeñas esferas o partículas huecas hechas de lípidos. Pueden empaquetarse para contener moléculas como DNA y medicinas para su utilización en procedimientos terapéuticos (por ejemplo, en terapia génica).

Lisis: disolución o destrucción de células.

Lisis celular: véase Lisis.

Lodo: material semisólido producido a partir de los residuos tratados. Consiste, principalmente, en pequeñas partículas de heces, papeles de desecho y microorganismos.

Luciferasa: enzima que emite luz y que está presente en organismos bioluminiscentes.

Macrófago: término que literalmente significa "que come mucho". Los macrófagos son glóbulos blancos fagocíticos que devoran y destruyen células muertas y cuerpos extraños como bacterias.

Malaria: enfermedad causada por el parásito protozoario *Plasmodium falciparum* y transmitida por insectos. Las cepas de *Plasmodium* están desarrollando resistencia en todo el mundo a los medicamentos antimalaria de utilización más frecuente.

Mapa de restricción: disposición o "mapa" del número, orden y tipos de sitios de corte de las enzimas de restricción en una molécula de DNA.

Marcadores de secuencia expresada (EST): pequeños fragmentos incompletos (etiquetas) de secuencias génicas como derivados de una biblioteca de cDNA. Representan los mRNA expresados en un tejido dado.

Marco Coordinado para la Regulación de la Biotecnología: informe gubernamental de 1984 que propuso que se regularan los productos de la biotecnología como los productos tradicionales.

Maricultura: cultivo y cría de organismos acuáticos (animales o plantas).

Masa celular interna: capa de células en el blastocisto que se desarrolla hasta formar los tejidos del organismo. Constituye una fuente de células madre embrionarias.

Medicamentos genéricos: copias de productos de marca que generalmente tienen la misma eficacia, seguridad y calidad pero que son producidos a un coste menor para el consumidor que los fármacos de marca.

Medicina regenerativa: disciplina de la biotecnología médica que implica la reparación o sustitución de tejidos y órganos dañados utilizando tejidos y órganos cultivados mediante métodos de biotecnología.

Meiosis: proceso de división nuclear que ocurre durante la formación de los gametos. La meiosis implica una serie de pasos que reducen la cantidad de DNA en las células de nueva división a la mitad comparadas con el de la célula original.

Membrana plasmática (celular): estructura de doble capa, compuesta por lípidos, proteínas e hidratos de carbono, que define los límites de una célula. Desempeña un papel importante en el diseño de la forma celular y en la regulación del transporte de las moléculas cuando entran y salen de una célula.

Metabolismo aeróbico: metabolismo que necesita oxígeno.

Metabolismo anaeróbico: anaeróbico significa con falta de oxígeno; es un organismo, un entorno o un proceso celular que no necesita oxígeno.

Metabolómica: estudio bioquímico de las pequeñas moléculas producidas durante el metabolismo celular, como la glucosa, el colesterol, el ATP y las moléculas de señalización que resultan del intercambio celular.

Metagenómica: secuenciación de genomas de comunidades enteras de microbios en muestras ambientales de agua, aire y tierra de los océanos del mundo, glaciares, minas y de casi cada rincón del mundo.

Metalotioneínas (MT): proteínas con capacidad para ligar metales pesados.

***Microarray* o micromatriz de proteínas:** es un "chip" similar a un *microarray* de DNA. Consiste en un portaobjetos de cristal que contiene miles de proteínas individuales que se han pegado a puntos específicos del portaobjetos. Cada "punto" contiene una proteína única.

Microbios: minúsculos organismos demasiado pequeños para poder observarlos individualmente a simple vista, y para lo cual es necesario un microscopio. Aunque los microorganismos más abundantes son las bacterias, los microbios también incluyen virus, hongos como las levaduras y el moho, algas y organismos unicelulares llamados protozoos.

Microbios nativos: microorganismos vivos y presentes de manera natural en el entorno.

Microcosmos: entornos de prueba diseñados para reproducir la contaminación ambiental. Puede estar compuesto por biorreactores o simplemente por un balde lleno de tierra contaminada. Permite a los científicos probar estrategias de limpieza a

pequeña escala en condiciones controladas antes de intentar un método de limpieza concreto en el medio ambiente.

Microesferas: partículas minúsculas que pueden rellenarse de medicamentos o de otras sustancias y utilizarlas en aplicaciones terapéuticas.

Microfiltración: eliminación de partículas de 40 μm o menos.

Microinyección pronuclear: este método introduce el DNA transgénico en la fase más temprana posible de desarrollo del cigoto (óvulo fecundado).

Microorganismos (microbios): organismos que no pueden ser vistos a simple vista. Entre ellos se encuentran las bacterias, las levaduras, los hongos, los protozoos y los virus.

MicroRNA: nueva clase de moléculas de RNA que no codifican para proteínas **(miRNA).** Los microRNA son parte de una creciente familia de pequeñas moléculas de RNA de entre 20 y 25 nucleótidos de tamaño que desempeñan nuevas funciones en la regulación de la expresión génica.

Microsatélites: también conocidos como repeticiones cortas en tándem (STR), son secuencias cortas de DNA que suelen consistir en secuencias de una, dos o hasta tres bases (por ejemplo CACACACACA). Los microsatélites son marcadores importantes en el análisis forense del DNA.

Mielomas: tumores que secretan anticuerpos.

Mitosis: proceso de división nuclear que ocurre durante la división celular en células somáticas eucariotas y procariotas. Se divide en cuatro fases principales: profase, metafase, anafase y telofase. La mitosis da como resultado el reparto equitativo del DNA en las células que se van dividiendo.

Modificación postraduccional: modificación de las proteínas que ocurre de manera natural después de la síntesis inicial.

Moléculas inorgánicas: moléculas que no contienen carbono.

Moléculas orgánicas: moléculas que contienen carbono e hidrógeno.

Monocotiledóneas: plantas cuyo embrión de la semilla presenta un solo cotiledón u hojita inicial (como el maíz).

Moratoria: en lo relativo a la ciencia, bloqueo temporal pero completo de cualquier investigación.

Mórula: término del latín que significa "mora pequeña". Se aplica a una bola sólida de células que se forma durante el desarrollo embrionario en animales, creada por la división celular repetida del cigoto.

Motivos: estas regiones, llamadas dominios de unión al DNA, tienen disposiciones estructurales plegadas de aminoácidos llamadas motivos que interactúan directamente con el DNA.

Mutación: cambio en la estructura del DNA o en la secuencia de un gen.

Mutación de cambio de sentido (también llamada de sentido erróneo): mutación que convierte un codón en otro codón que codifica un aminoácido diferente.

Mutación del marco de lectura: mutación resultante de la adición o sustracción de nucleótidos que causa un cambio en el marco de lectura del código genético de un gen.

Mutación silenciosa: alteración en una secuencia de nucleótidos que no provoca cambios en la secuencia de aminoácidos de una proteína.

Mutación sin sentido: mutación por la cual un codón que especifica un aminoácido es cambiado a un codón de terminación. Suele producir una proteína acortada, de funcionamiento deficiente o no funcional.

Mutaciones adquiridas: estas mutaciones ocurren en el genoma de células somáticas y no se transmiten a la descendencia; pueden causar anomalías en el crecimiento celular ocasionando formación de tumores cancerosos, trastornos metabólicos y otras enfermedades.

Mutaciones heredadas: cambios en la estructura del DNA o en la secuencia de un gen que pasan a los descendientes mediante los gametos. Pueden ser la causa de defectos de nacimiento y de enfermedades genéticas.

Mutaciones puntuales: cambio único de base en la secuencia del DNA.

Mutagénesis dirigida o sitio-dirigida: con esta técnica se pueden crear mutaciones en nucleótidos específicos de un gen clonado que esté contenido en un vector. Después, el gen se puede expresar en células, lo que da como resultado la traducción de una proteína mutada. Esto permite a los investigadores estudiar los efectos de mutaciones concretas en la estructura y las funciones de las proteínas como forma de determinar qué nucleótidos son importantes para las funciones específicas de la proteína.

Mutágeno: agente físico o químico que causa una mutación.

Nanomedicina: aplicación de nanotecnología para mejorar la salud. Un ejemplo son los microsensores que se pueden implantar en los seres humanos para monitorizar valores vitales como la presión sanguínea.

Nanotecnología: ingeniería, estructuras y tecnologías a escala nanométrica.

***Northern blotting*:** véase Análisis del *Northern blot.*

Notificación: declaración que se hace al USDA que se puede utilizar para trazar con rapidez algunos nuevos productos agrícolas, en la cual se describen bien las especies vegetales, no se introducen nuevas enfermedades, están contenidos en el núcleo, no producen toxinas y no están producidos a partir de un virus humano, de animal o vegetal.

Núcleo: orgánulo contenido dentro de la membrana que contiene el DNA de una célula eucariota.

Nucleótido: bloque estructural de ácidos nucleicos. Consiste en una molécula de azúcar (ribosa o desoxirribosa) de cinco carbonos (denominada pentosa), un grupo fosfato y las bases adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) o uracilo (U).

Nueva Autorización de Medicamento (New Drug Authorization o NDA): aprobación de un nuevo fármaco por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) después de que el medicamento haya pasado por la fase III de los ensayos clínicos.

Número de acceso: código único de identificación formado por letras y números asignado a cada secuencia de DNA clonada que se cataloga en bases de datos como el GenBank (por ejemplo, BC009971 es el número de acceso de uno de los genes de queratina, el cual produce una proteína que es un componente principal de las células de la piel y del pelo). Todos los científicos del mundo pueden utilizar el número de acceso de cualquier secuencia para recuperar información de la base de datos sobre esa secuencia específica.

Número de copias: número de copias de una molécula de DNA concreta o de una secuencia génica, como un plásmido, en una célula bacteriana.

Número diploide: dos series de cromosomas ($2n$). Se utiliza a menudo para describir células con dos series de cromosomas, normalmente cada una procedente de un progenitor.

Número haploide: conjunto de cromosomas (*n*). A menudo se utiliza para describir células con un solo conjunto de cromosomas.

Nutrigenómica: nuevo campo de la ciencia de la nutrición centrado en la comprensión de las interacciones entre la dieta y los genes.

Oficina de Estados Unidos de Patentes y Marcas (USPTO): oficina del gobierno federal encargada de registrar patentes (incluyendo las patentes de secuencias genéticas).

Oligonucleótidos (oligos): secuencias cortas, sintéticas y de cadena única de DNA. Se utilizan en reacciones de PCR y como sondas de DNA.

Oncogenes: genes causantes del cáncer. Suelen formar parte del genoma y tienen funciones normales. Cuando mutan, los oncogenes contribuyen al desarrollo del cáncer.

Operador: región del DNA, como la localizada en un operón, que se une a una proteína represora específica para controlar la expresión de un gen o un grupo de genes tales como un operón.

Operón: unidad génica común en las bacterias. Suele consistir en una serie de genes, localizados en regiones adyacentes de un cromosoma, reguladas de una manera coordinada. Muchos operones están implicados en el metabolismo celular bacteriano de nutrientes como los azúcares. Consúltese el operón *lac* para estudiar un operón bacteriano bien caracterizado.

Operón *lac*: operón bacteriano bien caracterizado que contiene una serie de genes (*lacZ, Y, Z*) responsables del metabolismo del azúcar lactosa.

Organismos modelo: organismos no humanos que los científicos utilizan para estudiar procesos biológicos en condiciones experimentales de laboratorio. Entre los ejemplos más comunes se incluyen ratones, ratas, moscas de la fruta, gusanos y bacterias.

Organismos modificados genéticamente (OMG): entre estos organismos se encuentran los transgénicos y los criados o cultivados de forma selectiva. Por ejemplo, se han realizado cultivos OMG en plantas que pueden resistir plagas, enfermedades o climas extremos, dando como resultado cosechas más productivas.

Orgánulos: pequeñas estructuras en el citoplasma de células eucariotas que realizan funciones específicas.

Orígenes de replicación: ubicaciones específicas en una molécula de DNA en las que comienza su replicación.

Osteoporosis: grupo de trastornos óseos que generalmente implican una pérdida progresiva de masa ósea.

Oxidación: eliminación de uno o más electrones de un átomo o una molécula.

Palíndromo: palabra o frase que se lee del mismo modo hacia delante y hacia atrás (por ejemplo, la palabra "reconocer" o la frase "dábale arroz a la zorra el abad"). En el contexto de biotecnología, es una secuencia de DNA con hebras complementarias que se lee igual hacia delante y hacia atrás. La mayoría de las secuencias de reconocimiento de las enzimas de restricción son palíndromos.

Papaína: enzima que digiere proteínas.

Pares de bases complementarias: son los nucleótidos adenina (A) y timina (T) [o uracilo (U) cuando se hace referencia al RNA] y guanina (G) y citosina (C). En una molécula de DNA, los nucleótidos A y T y G y C se unen por enlaces de hidrógeno para "complementarse" entre sí.

Partenogénesis: creación de un embrión sin fecundación mediante el método de parar la división del DNA en un óvulo y permitir que éste se desarrolle con un número mayor de cromosomas. Por ejemplo, el impedir que los cromosomas se separen en un óvulo humano crea una célula diploide que puede desarrollarse hasta formar un embrión.

Patente: reconocimiento legal que da a un inventor o investigador derechos exclusivos sobre un producto y que prohíbe a otros el fabricar, utilizar o vender el producto durante un número de años concreto (20 años a partir de la fecha en que se registra).

Patógenos: organismos causantes de enfermedades.

PCR de transcripción inversa (RT-PCR): técnica de laboratorio que implica utilizar la enzima transcriptasa inversa para copiar y convertir el RNA de una célula en cDNA y, después, amplificar el cDNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es una técnica valiosa para estudiar la expresión génica.

PCR de visualización diferencial: técnica de PCR que utiliza cebadores, también llamados oligonucleótidos o *primers,* de forma aleatoria para amplificar el DNA en dos o más muestras diferentes con el fin de identificar genes diferentes (expresados diferencialmente) amplificados de manera aleatoria en una muestra comparados con otra.

PCR en tiempo real o PCR cuantitativa (qPCR): las nuevas aplicaciones en la tecnología PCR hacen que sea posible determinar la cantidad de producto de la PCR que se fabrica durante un experimento. Esta tecnología utiliza oligonucleótidos con moléculas fluorogénicas y termocicladores especializados que permiten a los investigadores cuantificar las reacciones de amplificación a medida que ocurren.

Peptidil transferasa: enzima del rRNA que se encuentra en la subunidad grande del ribosoma y que cataliza la formación de enlaces peptídicos entre los aminoácidos durante la traducción.

Peptidil tRNA: molécula de tRNA unida a una cadena creciente de polipéptidos. Situada en el sitio P de un ribosoma durante la traducción.

Peptidoglicano (también denominado peptidoglucano): estructura de la pared de las células bacterianas compuesta por azúcares especializados y polipéptidos cortos e interconectados.

Percepción utilitarista: línea de pensamiento ético que afirma que las acciones son morales si el resultado produce un beneficio mayor para la mayor cantidad posible de seres humanos. También se conoce como ética consecuencial, porque se centra en los resultados o en las consecuencias, no en las intenciones.

Permeasa: enzima producida por el gen *lacY* del operón de la lactosa (lac) en bacterias. La permeasa transporta el disacárido lactosa hacia las células bacterianas.

Permiso de uso experimental (EUP): permiso otorgado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) para experimentos de campo con nuevas variedades de plantas que poseen cualidades pesticidas que implican por lo menos 4,05 hectáreas de tierra o 0,40 hectáreas de agua. Estos experimentos no pueden ser realizados sin un permiso de uso experimental.

Personalidad: término popular en bioética que define una entidad digna de protección con base en ciertos atributos no intrínsecos o valores automáticos.

Pistola de genes: dispositivo de microproyectiles utilizado para propulsar los genes presentes en la superficie de partículas metálicas hacia dentro de las células.

Placas: pequeñas manchas claras de bacterias muertas que aparecen sobre una placa de cultivo, causadas por la lisis de células bacterianas debida a los bacteriófagos.

Placebo: tratamiento ineficaz. Utilizado en la práctica científica en el grupo control de un experimento, como en los ensayos de un fármaco, durante los cuales los pacientes del grupo control reciben una pastilla o un tratamiento ineficaz (como una pastilla de azúcar o una inyección de agua) en vez de la medicación real que se está probando.

Plásmido inductor de tumor (Ti): vector plasmídico que se encuentra en *Agrobacter*.

Plásmidos: moléculas pequeñas, circulares y auto-replicantes de DNA de doble cadena que se encuentran principalmente en células bacterianas. Los plásmidos a menudo contienen genes que codifican para proteínas de resistencia a los antibióticos y se usan rutinariamente para experimentos de clonación del DNA.

Pluripotente: término utilizado para describir células, como las células madre embrionarias, que tienen el potencial de desarrollarse en otros tipos de células.

Polaridad: hace referencia a los extremos 5′ y 3′ de las moléculas de DNA y de RNA.

Poliadenilación: adición de una secuencia corta o "cola" de nucleótidos de adenina (A) al extremo 3′ de una molécula de mRNA. Tiene lugar durante el *splicing* (corte y empalme) del RNA en eucariotas. La cola poli-A es importante para la estabilidad del mRNA en el citoplasma.

Policultura (acuicultura integrada): cría de más de una especie acuática en el mismo entorno. Por ejemplo, criar peces y cultivar vegetación acuática a la vez.

Poligalacturonasa: enzima, producida de manera natural por las plantas, que digiere tejidos y, por ello, causa putrefacción o descomposición.

Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP): patrones únicos que se crean cuando se separa el DNA con número diferente de sitios o secuencias de digestión de las enzimas de restricción (debido a variaciones en el DNA) mediante electroforesis en gel y se detecta con colorantes y otros medios.

Polimorfismo de nucleótido simple/polimorfismo de un solo nucleótido/ (SNP): tipo de mutación del DNA o variación en la secuencia de genes que afecta a un solo nucleótido (o a veces a unos pocos nucleótidos, por ello es más adecuado el término "polimorfismo de nucleótido simple"). Es la base de la variación genética entre seres humanos.

Polipéptido: cadena de aminoácidos unidos por enlaces covalentes (peptídicos). Suele tener una longitud de más de 50 aminoácidos.

Poliploides: organismos con tres o más juegos completos de cromosomas.

Potenciadores: secuencias específicas de DNA que unen las proteínas llamadas factores de transcripción para estimular ("potenciar") la transcripción genética.

Precipitados: combinaciones debidas a la atracción mutua.

Primasa: enzima que sintetiza y añade pequeños segmentos de RNA a una hebra única de DNA como paso temprano y necesario para la replicación del DNA.

Priones: partículas proteicas infecciosas. Atraen proteínas celulares normales e inducen cambios en su estructura, normalmente conducentes a la acumulación de proteínas inútiles que causan daños a las células. Las enfermedades por priones pueden aparecer en ovejas, en cabras (*scrapie* o prurito lumbar) y en vacas (encefalopatía espongiforme bovina, comúnmente conocida por "enfermedad de las vacas locas"). Las formas humanas de estas enfermedades que destruyen el cerebro incluyen el kuru y la encefalopatía espongiforme transmisible (TSE). Todas estas enfermedades implican cambios en la conformación de la proteína precursora del prión, una proteína que normalmente se encuentra en las neuronas de los mamíferos en forma de glucoproteína de la membrana.

Probabilidad estadística: uso de medidas estadísticas para calcular la posibilidad o probabilidad de que ocurra un acontecimiento concreto.

Procesamiento anterior: ajustes en el proceso de purificación basados en cambios en el proceso biológico, haciendo más eficiente el procesamiento.

Procesamiento posterior: procesos de purificación implicados en la producción de un producto puro como una proteína recombinante.

Procesos discontinuos o *batch* (a gran escala): cultivo de microorganismos como bacterias o levaduras y otras células vivas como células de mamíferos en grandes cantidades con el fin de aislar productos útiles en un *batch* o lote.

Programa del Genoma Microbiano (MGP): programa del Departamento de Energía de Estados Unidos para mapear y secuenciar genomas de gran variedad de microorganismos.

Programa Superfund: programa establecido por el Congreso de Estados Unidos en 1980 a través de la Agencia de Protección Ambiental, diseñado para identificar y limpiar los lugares que tienen residuos peligrosos y proteger a los ciudadanos de los efectos dañinos de estos lugares.

Promotor: secuencias específicas de DNA adyacentes a un gen que dirige la transcripción (síntesis de RNA). Es el sitio de unión de la RNA polimerasa para comenzar la transcripción.

Proteasas: enzimas que digieren proteínas.

Proteína: macromolécula compuesta por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Son las moléculas más importantes a nivel estructural y funcional de las células.

Proteína fluorescente verde: proteína producida por la medusa bioluminiscente *Aequorea victoria*. La proteína emite fluorescencia cuando se expone a la luz ultravioleta. El gen *GFP* se utiliza como gen reportero o marcador.

Proteínas anticongelantes (AFP): categoría de proteínas aisladas a partir de los organismos acuáticos que viven en medios muy fríos; estas proteínas tienen la propiedad única de bajar la temperatura de congelación de los líquidos y los tejidos corporales.

Proteínas de fusión: proteínas "híbridas" recombinantes que consisten en una proteína de un gen de interés conectada (fusionada) con otra proteína conocida que hace de marcador para aislar proteínas recombinantes.

Proteínas de unión a cadena sencilla: proteínas que se unen a hebras únicas desenrolladas de DNA padre durante la replicación del DNA para evitar que éste rehaga cadenas dobles antes de ser copiado.

Proteínas recombinantes: proteínas con valor comercial creadas gracias a la tecnología del DNA recombinante y de clonación de genes. Entre los ejemplos se cuentan la insulina y la hormona del crecimiento.

Proteolítico: característica de ciertas sustancias para romper las proteínas mediante lisis.

Proteoma: conjunto de las proteínas de un organismo.

Proteomas: familias de proteínas.

Proteómica: estudio de las familias de proteínas.

Protoplasto: célula vegetal desnuda (es decir, sin pared celular).

Proyecto Atlas del Genoma del Cáncer: el NIH (Instituto Nacional de Salud) está trabajando en este proyecto del genoma del cáncer para mapear genes importantes y cambios genéticos implicados en el cáncer.

Proyecto del Genoma Ambiental: programa del NIH diseñado para estudiar el impacto de las sustancias químicas medioambientales en la genética humana y en las enfermedades.

Proyecto del Genoma Humano: esfuerzo internacional con objetivos científicos generales de identificar todos los genes humanos y determinar (mapear) su ubicación en cada cromosoma humano.

Proyecto del Proteoma Humano: proyecto diseñado para estudiar las estructuras y el funcionamiento de todas las proteínas humanas (que conforman el proteoma).

Pruebas de campo: pruebas fuera del laboratorio que el Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (APHIS) del USDA exige que se realicen después de que se haya creado una nueva planta mediante ingeniería en un laboratorio. Pueden ser necesarios varios años para investigar todo acerca de la planta, incluyendo su resistencia a las enfermedades, su tolerancia a los fármacos y su tasa de reproducción.

Pruebas genéticas de preimplantación: se están utilizando los análisis PCR y ASO, así como los FISH, para rastrear defectos genéticos en las células individuales de embriones de 8 a 32 células creados por fecundación *in vitro*. Permite que las personas escojan un embrión sano antes de la implantación.

PulseNet: asociación de laboratorios de identificación genética del DNA bacteriano creada por los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos y el Departamento de Agricultura de aquel país, diseñada para facilitar análisis rápidos de alimentos contaminados con el fin de identificar microbios contaminantes y de evitar brotes de enfermedades transmitidas por estos alimentos.

Punto isoeléctrico (IEP): pH en el cual la carga de las proteínas iguala la carga del medio circundante.

Quimera: organismo con más de un tipo de célula; algunas células son normales y otras están modificadas genéticamente.

Quimioterapia: tratamiento del cáncer y de otras enfermedades con agentes químicos concretos o fármacos que tienen un efecto tóxico en las células enfermas o en microorganismos causantes de enfermedades.

Quimosina: véase Renina.

Quitina: polímero polisacárido complejo compuesto por unidades repetidas de un azúcar llamado N-acetilglucosamina. La quitina forma la dura concha externa (el exoesqueleto) de los cangrejos, los bogavantes, las langostas, las gambas, los langostinos y otros crustáceos. También se encuentra en los insectos y en otros organismos.

Rasgos: características heredadas de un organismo, tales como el color de la piel y la forma del cuerpo.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): técnica de laboratorio para amplificar y clonar el DNA. Implica múltiples ciclos de desnaturalización, hibridación de cebadores, oligonucleótidos o *primers* y síntesis de hebras nuevas por la DNA polimerasa.

Reacción redox: combinación de reacciones de oxidación y reducción.

Recombinación homóloga: un gen se recombina con su gen correspondiente en un cromosoma (con el que tiene gran similitud de secuencias), sustituyendo parte o todo el gen.

Reducción: adición de uno o más electrones a una molécula.

Regulación genética: término general utilizado para describir procesos por los que las células pueden controlar la actividad genética o su "expresión" (la síntesis de RNA y de proteínas).

Regulación transcripcional: forma de regulación de la expresión génica que implica controlar el proceso de transcripción controlando la cantidad de RNA producido por una célula.

Regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR): proteína que hace de "bomba" para regular la cantidad de iones cloruro en las células. Las mutaciones en el CFTR son la causa del trastorno genético denominado fibrosis quística.

Renina (quimosina): enzima que degrada proteínas derivada del estómago de los animales productores de leche como las vacas y las cabras. Se utiliza en la producción de queso. La forma recombinante se denomina quimosina.

Repeticiones cortas en tándem (STR): véase también Microsatélites. Son repeticiones de uno a seis nucleótidos dispersas en los cromosomas. Como estas regiones repetidas pueden darse en muchas ubicaciones dentro del DNA, las sondas que se utilizan para identificarlas complementan las regiones de DNA que rodean el microsatélite concreto que se está analizando.

Repeticiones en tándem de número variable (VNTR): se pueden encontrar números variables de repeticiones de nucleótidos en el DNA que se pueden utilizar para identificar personas.

Réplica en placa: técnica en la que las células bacterianas de una placa pueden ser transferidas a otra placa para producir una réplica en una placa con células bacterianas que crecen en el mismo sitio que en la placa original. También se puede realizar con otras células como levaduras o virus.

Replicación semiconservativa del DNA: proceso de copia del DNA. Una molécula de DNA original (parental) da lugar a dos moléculas, cada una de las cuales tiene una hebra original y una hebra nueva.

Representantes de ventas: vendedores de las empresas de biotecnología. Los representantes de ventas son las "personas de la gente", ya que trabajan estrechamente con doctores, hospitales y asistentes sanitarios para promocionar los productos de una empresa.

Represor *lac*: proteína inhibidora codificada por el gen *lacI* del operón lactosa (lac) en bacterias. En ausencia de lactosa, el represor bloquea la transcripción del operón lac.

Reprogramación nuclear de células somáticas: se utiliza para aislar células madre sin crear un embrión. El concepto básico de este método es utilizar genes implicados en el desarrollo celular para forzar a una célula somática a que vuelva a una fase anterior de desarrollo y que ello afecte a la expresión génica con vistas a reprogramar la célula somática genéticamente para que regrese al estado pluripotente característico de las células madre de las que deriva.

Respuesta HAMA: se da cuando los anticuerpos de ser humano producidos por hibridoma de ratón producen suficientes antígenos "de ratón". En ese caso aparece esta indeseable respuesta inmune en los seres humanos.

Retrovirus: virus que contienen un genoma de RNA y que utilizan transcriptasa inversa para copiar RNA en DNA durante el ciclo de replicación en células anfitrionas.

Ribosoma: orgánulo compuesto por ácido ribonucleico ribosomal (rRNA) y proteínas, dispuesto en paquetes llamados subunidades. Los ribosomas se unen al mRNA y a las moléculas de tRNA y son el sitio de síntesis de proteínas en los procariotas y los eucariotas.

RNA antisentido: es una molécula de RNA complementaria de un RNA nativo.

RNA de interferencia (RNAi): mecanismos de silenciamiento de genes basados en el RNA. Estos siRNA están unidos por un complejo proteína-RNA llamado complejo de silenciamiento inducido por el RNA (RISC).

RNA de transferencia (tRNA): pequeñas moléculas de RNA encargadas de transportar los aminoácidos a los ribosomas durante la síntesis de proteínas. El tRNA se une a codones específicos en las secuencias de mRNA durante la traducción.

RNA mensajero (mRNA): el mRNA, una plantilla para la síntesis de proteínas, es una copia exacta de un gen. Contiene secuencias de nucleótidos copiadas del DNA que sirve como código genético para sintetizar una proteína y después se une y es "leído" por los ribosomas para producir proteínas.

RNA pequeño de interferencia/RNA de silenciamiento (siRNA): fragmentos cortos (de 21 o 22 nucleótidos) de doble cadena de RNA que no codifican proteínas. Reciben este nombre porque se ha demostrado que se unen al mRNA y posteriormente bloquean o interfieren la traducción de los mRNA unidos.

RNA polimerasa: copia RNA a partir de una plantilla de DNA. Las formas diferentes de RNA polimerasa sintetizan tipos diferentes de RNA.

RNA ribosómico (rRNA): pequeñas moléculas de RNA que son componentes esenciales de los ribosomas.

Secuencia de reconocimiento: véase Sitio de restricción.

Secuencia primaria: secuencia de aminoácidos de una proteína.

Secuenciación de proteínas: identificación de la secuencia de aminoácidos por escisión de cada aminoácido, uno cada vez.

Secuenciación del DNA: técnica de laboratorio para determinar la secuencia de nucleótidos o la disposición de nucleótidos A, G, T y C en un segmento de DNA.

Selección (antibiótica, rastreo/selección azul-blanca): técnica de laboratorio utilizada para identificar bacterias que contengan DNA recombinante de interés. Implica el cultivo de bacterias en medios con antibióticos u otras moléculas de selección.

Selección antibiótica: véase Selección.

Senescencia: proceso de envejecimiento celular.

Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (APHIS): es la rama del USDA responsable de proteger la agricultura de Estados Unidos de plagas y enfermedades.

Síndrome de Down: trastorno genético humano descrito por primera vez por John Langdon Down. Normalmente se produce porque los individuos poseen tres copias del cromosoma 21 (trisomía 21). Las características de los individuos afectados incluyen cara plana, baja estatura, manos y dedos cortos y anchos, lengua que tiende a salir de la boca e insuficiente desarrollo físico, motor y mental.

Sistema de doble híbrido en levadura: técnica de laboratorio que implica el uso de levadura para unir proteínas diferentes (creando una proteína híbrida) como forma de estudiar el funcionamiento de las proteínas.

Sistema de Identificación en Grandes Catástrofes (Mass Fatality Identification System o M-FISys): a raíz de la catástrofe del World Trade Center, la empresa Gene Codes Corporation desarrolló un potente programa llamado M-FYSis. Gene Codes no tuvo que crear un *software* completamente nuevo y pudo adaptar su programa a las nuevas necesidades. Además de analizar el DNA mitocondrial, M-FISys incorporó el análisis de marcadores STR específicos del cromosoma Y (STR-Y), marcadores genéticos que únicamente presentan los varones, para ayudar en la identificación de las personas.

Sistema de Índice Combinado de DNA (CODIS): el CODIS hace posible que los laboratorios criminológicos federales y los locales intercambien y comparen perfiles de DNA electrónicamente, estableciendo asociaciones entre crímenes que no parecen tener relación entre sí y los que los cometen.

Sistemas hidropónicos: forma de acuicultura en la que se utilizan tanques con agua fluyendo para cultivar plantas. En algunos casos, se utiliza el agua procedente de los tanques de acuicultura piscícola para suministrar nutrientes para el crecimiento de las plantas con un enfoque de policultura.

Sitio A (aminoacil) de un ribosoma: porción de un ribosoma en la que las moléculas de tRNA se unen durante la traducción.

Sitio de restricción: secuencia específica de nucleótidos de DNA a la que reconoce y corta una enzima de restricción.

Sitio E: ranura a través de la cual las moléculas de tRNA abandonan el ribosoma.

Sitio P (peptidil) de un ribosoma: porción de un ribosoma en la que se unen las moléculas de peptidil tRNA durante la traducción.

Solicitud de Licencia Biológica (BLA): es la que presenta una empresa de biotecnología que busca la aprobación de un producto generado biológicamente, como una terapia viral, un compuesto sanguíneo, una vacuna o una proteína derivada de animales.

Sonda: molécula de cadena única de DNA o RNA (marcada, por ejemplo, con nucleótidos radiactivos o fluorescentes) que puede unirse a otras secuencias de DNA o de RNA por apareamiento de bases complementarias y ser detectada por una autorradiografía. Es una técnica de laboratorio importante para las aplicaciones que requieran identificar genes y estudiar su actividad.

Sonda de locus único: la sonda sólo se unirá a secuencias complementarias de DNA que se encuentran en un único lugar del genoma.

Sondas multilocus: la sonda sólo se unirá a las secuencias complementarias del DNA, localizadas en más de un sitio del genoma.

***Southern blotting*:** véase Análisis *Southern blot.*

***Splicing* alternativo, corte y empalme alternativo:** el *splicing* a veces puede unir a ciertos exones y cortar otros, esencialmente tratándolos como intrones. Este proceso crea múltiples mRNA de diversos tamaños a partir del mismo gen. Cada mRNA puede utilizarse entonces para producir proteínas diferentes con funciones diferentes y a veces únicas. El *splicing* alternativo permite la producción de varias proteínas a partir de la misma secuencia génica.

StarLink: maíz transgénico no aprobado para el consumo humano del que se sospechó que contaminaba las semillas destinadas para servir de alimento.

Subtilisina: proteasa derivada del *Bacillus subtilis,* un componente valioso de muchos detergentes, en los que degrada y

elimina manchas de proteínas de la ropa. También se utilizan varias enzimas bacterianas para fabricar alimentos, como las enzimas que digieren hidratos de carbono llamadas amilasas, que se utilizan para degradar almidones.

Sustrato: molécula o moléculas en las que una enzima realiza una reacción.

***Taq* DNA polimerasa:** enzima que sintetiza DNA aislada de *Thermus aquaticus*, una Arquea termofílica que vive en manantiales de agua caliente. Su capacidad para resistir altas temperaturas (termoestabilidad) sin desnaturalizarse la hace valiosa para su utilización en experimentos de PCR.

Talidomida: compuesto utilizado inicialmente para combatir las náuseas matinales de las mujeres embarazadas. Ciertas formas químicas de talidomida causaron graves defectos de nacimiento. Los derivados de talidomida se siguen investigando para su uso en el tratamiento del cáncer, HIV y otras enfermedades.

Técnica de fragmentación de hojas: método de clonación de plantas a partir de tejido vegetal asexual.

Técnico de laboratorio: puesto de trabajo en un laboratorio que implica una serie de responsabilidades tales como preparar soluciones y medios, hacer pedidos de material de laboratorio, limpiar y mantener el equipo en buen estado, etc. A veces puede implicar investigacion básica de laboratorio.

Técnicos de fabricación: deben cumplir estrictamente con las normas de la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) en todas las etapas de la producción de medicamentos biotecnológicos.

Tecnología del DNA recombinante: técnica que permite la combinación del DNA a partir de diversas fuentes. También recibe el nombre de corte y empalme o *splicing* de DNA o de genes. El DNA recombinante es una técnica importante para muchas aplicaciones de clonación de genes.

Telomerasa: enzima que rellena huecos de nucleótidos de DNA en los extremos de los cromosomas (telómeros) que permanecen después de que la DNA polimerasa haya copiado el DNA.

Telómeros: son las estructuras de los extremos de un cromosoma eucariota. En los seres humanos consiste en secuencias específicas repetidas de DNA (TTAGGG).

Terapia génica: uso de genes terapéuticos para tratar o curar una enfermedad. También hace referencia al tratamiento de genes para mejorar la salud de una persona.

Terapia génica *ex vivo*: procedimiento de terapia génica que implica la extirpación de las células de un paciente (como los glóbulos blancos de la sangre) introduciendo genes terapéuticos en esas células y reintroduciéndolas después en la persona.

Terapia génica *in vivo*: procedimiento de terapia génica que implica la introducción de genes terapéuticos directamente en los tejidos u órganos de una persona sin extirparlos del cuerpo.

Termófilos: organismos que necesitan una temperatura muy alta para vivir. Por ejemplo, las bacterias que viven en manantiales de agua caliente son termófilas.

Timina: su abreviatura es T. Es una base de pirimidina que está presente en los nucleótidos de DNA.

Tinción azul de Coomassie: colorante sensible que reacciona con las proteínas, permitiendo visualizarlas.

Tinción de Gram o coloración Gram: técnica para teñir la pared celular bacteriana que puede utilizarse para dividir las bacterias en distintas categorías: gram-positivas o gram-negativas.

Traducción: síntesis de proteínas a partir de información genética en moléculas mensajeras (mRNA). La traducción tiene lugar en el citoplasma de todas las células.

Transcripción: síntesis de RNA a partir de DNA; ocurre en el núcleo de las células eucariotas y en el citoplasma de las células procariotas.

Transcriptasa inversa: enzima polimerasa viral que copia RNA en DNA de cadena única. Esta enzima, disponible comercialmente, se utiliza para muchos experimentos de biología molecular, como la creación de cDNA.

Transcrito primario (pre-mRNA): molécula inicial de mRNA copiada de un gen en el núcleo de las células eucariotas. Sufre modificaciones (procesamiento) para producir moléculas de mRNA maduro que entran en el citoplasma.

Transfección: consiste en la introducción de DNA externo en células eucariotas de plantas o animales.

Transferencia de células madre embrionarias: las células madre embrionarias se obtienen de la masa celular interna de los blastocistos. Estas células transformadas se suelen injertar en la masa celular interna de un blastocisto anfitrión.

Transferencia mediada por esperma: el DNA se inyecta o se une directamente al núcleo del espermatozoide antes de la fecundación.

Transferencia nuclear de célula somática: proceso de transferencia de DNA que puede utilizarse para fines de clonación reproductiva o terapéutica. Implica extraer el DNA de una célula e insertarlo en un óvulo al que se le haya quitado el DNA (óvulo enucleado).

Transformación: proceso por el que las bacterias incorporan DNA de su entorno. El término también se utiliza para definir los cambios que provocan que una célula normal se convierta en una célula cancerosa.

Transgén: gen de un organismo introducido en otro organismo para crear uno transgénico. El término se suele aplicar a los genes utilizados para crear animales y plantas transgénicos.

Transgénesis vegetal: transferencia génica a una planta procedente de otra especie.

Transgénesis/transferencia génica mediada por retrovirus: técnica que implica infectar embriones con un retrovirus (normalmente fabricado mediante ingeniería genética) antes de ser implantados. El retrovirus actúa como vector para el nuevo DNA.

Transgénicos: animales que contienen genes procedentes de otra fuente. Por ejemplo, los genes humanos de proteínas de coagulación pueden ser introducidos en vacas para que produzcan estas proteínas en su leche.

Tratamiento humanitario: enfoque compasivo y comprensivo, como el aplicado en el tratamiento de seres humanos y animales.

Tres "R" de la investigación animal: *Reducir* el número de especies superiores utilizadas. *Reemplazar* los animales por modelos alternativos siempre que sea posible. *Refinar* las pruebas y los experimentos para garantizar las condiciones más humanitarias posibles.

Triploide: término utilizado para describir organismos con tres juegos de cromosomas ($3n$).

Tuberculosis (TB): enfermedad causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis,* que crece lentamente y puede estar latente en un ser humano durante varios años antes de que esa persona desarrolle TB.

Tumor de cuello: masa endurecida de tejido vegetal desdiferenciado que suele aparecer como resultado de un ataque de *Agrobacter*.

Ultrafiltración: separación de partículas de menor tamaño que 20 µm.

Uracilo: su abreviatura es U. Es una base de pirimidina presente en los nucleótidos de RNA.

Utilidad creíble: requisito de la oficina estadounidense de patentes y marcas (USPTO) que establece que el investigador debe convencer a esta oficina de que la aplicación está respaldada por una base científica sólida.

Utilidad específica: requisito de la USPTO que establece que el investigador debe saber exactamente lo que hace la secuencia de DNA si desea patentarla.

Utilidad sustancial: requisito de la oficina estadounidense de patentes y marcas (USPTO) que establece que el producto debe tener una función en el mundo real antes de que pueda ser patentado.

Vacuna: preparación de un microorganismo o de sus componentes que se utiliza para estimular la producción de anticuerpos (inmunidad mediada por anticuerpos) en un organismo.

Vacuna atenuada: vacuna compuesta por microorganismos vivos debilitados.

Vacuna de subunidad: vacuna creada a partir de componentes de un patógeno como proteínas virales o moléculas lipídicas.

Vacuna DPT: vacuna infantil diseñada para proporcionar protección inmunológica frente a las toxinas bacterianas que producen difteria, tosferina y tétano (contiene células muertas de *Bordetella persussis*). Los microbios que producen estas toxinas causan infección de las vías respiratorias superiores, tos convulsiva y tétanos (espasmos musculares y parálisis) respectivamente.

Vacuna inactivada: vacuna compuesta por microorganismos muertos.

Vacuna triple vírica o MMR: vacuna contra el sarampión, las paperas y la rubéola diseñada para proporcionar protección inmunitaria contra enfermedades frecuentes de la niñez.

Vacunación: proceso de administración de una vacuna para proporcionar a un organismo inmunidad contra un microorganismo infeccioso.

Vector: DNA (o virus) que pueden utilizarse para transportar y replicar otras piezas del DNA en experimentos de biología molecular. Por ejemplo, el DNA plasmático o los virus utilizados para terapia génica. También hace referencia a los organismos que transmiten enfermedades.

Vector cósmido: gran vector de DNA circular de doble cadena que se usa para experimentos de clonación de genes en bacteriófagos.

Vector de expresión: vector de DNA, como un plásmido, que se puede utilizar para producir (expresar) proteínas en una célula.

Vector Ti: vector de DNA plasmídico derivado de bacterias del suelo que se puede utilizar para clonar genes en células vegetales e introducir genes en plantas.

Virus del mosaico del tabaco (TMV): virus que invade ciertas plantas de manera natural.

Virus del papiloma humano (HPV): causa alrededor del 70 por ciento de los cánceres cervicales (cepas 16 y 18 del HPV) y un alto porcentaje de verrugas genitales o condilomas (causados por las cepas 6 y 11 del HPV). El cáncer cervical afecta a 1 mujer de cada 130, es decir, a casi medio millón de mujeres en todo el mundo, y aproximadamente el 70 por ciento de las mujeres sexualmente activas se infectarán con HPV.

***Western blotting*:** véase Análisis del *Western blot.*

Xenotrasplante: trasplante de tejidos u órganos de una especie a otra. Por ejemplo, el de un órgano de un cerdo a un ser humano.

Índice



Actualizada con información práctica sobre los últimos avances en el campo de la biotecnología, esta edición proporciona las herramientas y los conceptos fundamentales para adquirir las principales habilidades de la disciplina.

Con un tratamiento equilibrado de la biología celular y molecular, de las técnicas básicas, los logros históricos y las aplicaciones propias, este libro pone de manifiesto la importancia de la biotecnología en la agricultura, la medicina y la industria. Trata de forma exhaustiva los aspectos éticos y ambientales, así como los perfiles profesionales y la empresa biotecnológica.

Introducción a la biotecnología contiene importantes novedades pedagógicas, como enlaces a sitios web (en inglés), que mantendrán al estudiante al corriente de los últimos avances. La sección sobre la empresa biotecnológica ofrece una visión de cómo es su estructura, cuáles son las principales empresas farmacéuticas y biotecnológicas y proporciona datos actualizados de la industria.

El estudiante encontrará nueva información sobre el proyecto del genoma humano, la genómica y las disciplinas relacionadas que reflejan la revolución «ómica» que experimenta la biología actual. La metanogenómica se ha incluido en esta edición, ampliando los contenidos sobre vacunas. Otros avances recientes que se han producido en campos como la biotecnología acuática o las nuevas técnicas para producir y aislar células madre son tratados en profundidad. Finalmente, cabe destacar la incorporación de temas que han suscitado más polémica en los últimos tiempos: los fármacos biotecnológicos, el terrorismo biológico y la confidencialidad de datos clínicos.

Addison Wesley
es un sello editorial de



www.pearsoneducacion.com

